



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets

⑪ Veröffentlichungsnummer: 0 257 400  
A2

⑫

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

⑬ Anmeldenummer: 87111382.5

⑮ Int. Cl. 4: A61K 47/00 , A61K 9/10

⑭ Anmeldetag: 06.08.87

Die Bezeichnung der Erfindung wurde geändert  
(Richtlinien für die Prüfung im EPA, A-III, 7.3).

⑯ Priorität: 07.08.86 DE 3626700

⑰ Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
02.03.88 Patentblatt 88/09

⑱ Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

⑲ Anmelder: MEDICE Chem.-Pharm. Fabrik  
Plütter GmbH & Co. KG  
Kuhloweg 37-39  
D-5860 Iserlohn/Westfalen(DE)

⑳ Erfinder: Paradies, Henrich,  
Prof.Dr.med.Dr.rer.nat.  
Kuhloweg 38  
D-5860 Iserlohn(DE)

㉑ Vertreter: Reinhard, Skuhra, Weise  
Leopoldstrasse 51  
D-8000 München 40(DE)

㉒ Kationische Tenside enthaltende Arzneimittel.

㉓ Es wird eine pharmazeutische Zubereitung offenbart, die aufgebaut ist aus einer Micelle, bestehend aus einem kationischen Tensid mit einem einwertigen Anion und einem hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoff, dispergiert in einem Lösungsmittel, dessen pH-Wert kleiner  $\leq 7$  ist, wobei die kritische Micellbildungskonzentration (KMK) im Bereich von  $1,0 \cdot 10^{-7}$  bis  $1,5 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter liegt. Außerdem wird eine Anzahl neuer kationischer Tenside (Heterozyklen) offenbart. Die offebarten Zubereitungen haben insbesondere den Vorteil, daß durch die Erhöhung der Hydrophobizität der Alkyl- bzw. Aryl-Kette bzw. Restes am N<sup>+</sup>-Tensid die Membran-Permeabilität erhöht wird, so daß die pharmazeutischen Wirkstoffe quantitativ passiv in das Zytosol übertreten können.

EP 0 257 400 A2

Pharmazeutische Zubereitungen

Die vorliegende Erfahrung betrifft pharmazeutische Zubereitungen, bekannte kationische Tenside als Bestandteile der pharmazeutischen Zubereitung, neue chemische Verbindungen (kationische Tenside), die insbesondere als Bestandteil der pharmazeutischen Zubereitungen verwendet werden, Verfahren zur Herstellung der pharmazeutischen Zubereitung und Verfahren zur Herstellung der bekannten und neuen chemischen Verbindungen (kationischen Tensiden).

Stand der Technik und dessen Nachteile:

- 10 Micellen in wässriger Lösung, sowohl nichtionische, kationische und anionische sind in der Literatur in zahlreichen Veröffentlichungen beschrieben worden. (Mittal, K.L. (1977) *Micellization, Solubilization and microemulsions*, Plenum Press, New York. - Mittal, K.L. (1979), *Solution Chemistry of Surfactants*, Plenum Press, New York. - Menger, F.M. (1977). In *Bioorganic Chemistry III. Macro-and Multicomponent Systems* (E.E.Van Tamelen, Ed.), Academic Press, New York. - Menger, F.M. (1979a) *Acc. Chem. Res.* 12, 111-117.
- 15 On the Structures of Micelles. - J.H.Fendler, E.J. Fendler (1975) *Catalysis in micellar and macromolecular Systems*, Academic Press.) Ihr Aufbau und ihre galenische, medizinische und technische Verwendung ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. So ist die antiseptische Wirkung von Cetylpyridiniumchlorid, Benzethoniumchlorid und Benzalkoniumchlorid oder deren Bromide bekannt. Auch, daß sie in geringen Konzentrationen bakterizide Wirkung *in vitro* gegenüber einer großen Anzahl von grampositiven und 20 gramnegativen Bakterien zeigen, wobei die gramnegativen wesentlich empfindlicher als die grampositiven reagieren. Auch sind bestimmte grammegative Bakterien resistent gegenüber diesen quartären Ammoniumbasen, z.B. *Pseud. cepalia*, *Mycobakt. tuberculosis*.

Normalerweise haben kationische Micellen in wässriger Phase zusätzlich in ihrem hydrophoben Kern, der weitgehend durch die aliphatische Kette und ihre Länge bestimmt wird, eine hydrophobe-hydrophile Grenzschicht (Sternlayer), die hydratisiert ist und z.T. die Gegenionen beherbergt. Die Größe dieser Grenzschicht liegt im allgemeinen zwischen 7-10 Å. Außerdem sind sie noch mit der Guy-Chapman-Layer von 10-20 Å umgeben, die nicht elektrostatisch gebundene Gegenionen, z.B. Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, HSO<sub>4</sub><sup>-</sup> und unstrukturiertes Wasser enthalten. Nur die Konzentrationen der Gegenionen als auch andere Ionen bewirken eine Senkung der kritischen Micellenbildungs-Konzentration (KMK) bei konstanter Temperatur, Druck und chemischen Potentials, wobei die Natur der Gegenionen die Form und Größe der Micellen in wässriger Phase bestimmen können. Dies bewirken allerdings nur die Fraktion von Gegenionen, welche im Stern-layer in der Nähe des quartären Stickstoffs sich befinden.

Die reinen, bislang bekannten kationischen quartären Ammoniumbasen - offiziell auch als Invertseifen bezeichnet - haben nur eine begrenzte und nicht spezifische antimikrobielle Wirkung (siehe z.B. W. Forth, D. Henschler, W. Rummel, Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 4. Auflage. B.I. Wissenschaftsverlag, 1983, S. 616). Daher sind ihre Einsetzbarkeit z.B. als Konservierungsmittel oder als Desinfizienten in den operativen Fächern der Medizin oder auf Infektionsstationen (Antiseptika) begrenzt, trotz ihrer geringen Toxizität. Domagk erkannte 1935 (siehe Wallhäuser, K.H.: Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Keimidentifizierung, Betriebshygiene. 2. Aufl., Thieme, Stuttgart, 1978), daß die quartären Ammoniumbasen nur dann bakterizid wirksam sind, wenn mindestens einer der Substituenten am Stickstoff aus einer linearen Alkylkette mit 8-18 Kohlenstoffatomen besteht, wobei die optimale Kettenlänge bei C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub> liegt. Die bekanntesten Vertreter dieser Stoffklasse sind die Benzalkonium-Salze (Chloride und Bromide). Darüber hinaus sind Hexadecylpyridinium-chlorid und Benzethonium-chlorid bekannt und haben medizinische und pharmazeutische Bedeutung erlangt. Die Wirkung dieser Invertseifen ist bekanntlich stark milieubhängig. Durch Seifen z.B. wird die Wirkung weitgehend aufgehoben, wie auch im sauren pH-Bereich. Auch Blut, Eiter, Stuhl sowie Schmutz führen gleichfalls zur Inaktivierung. Außerdem haben sie eine Eiweiß fällende Wirkung, die schon bei geringen Konzentrationen der N<sup>+</sup>-Tenside einsetzt, d.h. im Bereich von 1-2 Gew.% von wässrigen Lösungen. Bei Konzentration dieser bekannten Tenside, welche nur das 2-3-fache der kritischen KMK betragen, erfolgt zwar keine eiweißfällende Wirkung (Denaturierung), doch 50 eine reversible Inaktivierung von Enzymsystemen und Stützproteinen durch Entfaltung der aktiven dreidimensionalen Struktur. ("loss of activity through unfolding")

Bekannt ist auch die antibakterielle und unspezifische Wirkung von quartären Ammoniumverbindungen und ihre oberflächenaktive Wirkung, von Dequalinium-acetat, Cetyltrimethyl-ammonium-bromid (CTAB) und Hexadecyl-pyridiniumchlorid (CPCl), (siehe z.B. Goodman and Gilman's, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, EDS. A.G. Goodman, L.S. Goodman, Th.W. Rall, F. Murad, 1985, 7th Edition, Collier,

- MacMillan Publishing Company, N. Y., S. 971.; Merck Index, 1985). Die micellaren Eigenschaften dieser Verbindungen sind mit ihrer Oberflächenaktivität und antimikrobiellen Eigenschaften in Beziehung gesetzt worden (siehe Attwood, D. and Florence, A.T., Surfactant Systems, Chapman and Hall, London u. New York, 1983). Jedoch kann die unspezifische Oberflächenaktivität dieser quartären aliphatischen und aromatischen
- 5 Ammoniumbasen nicht a priori als Voraussetzung für die antibakterielle, antifungale und keratolytische Wirkung angesehen werden, da nichtionische Detergentien, z.B. Brij, Triton X 100, Lubrol etc. nicht reaktiv werden.

Organische quartäre Ammoniumbasen des Typs ( $R_n, R_1, R_2, R_m, N^+Y^-$ , ( $HET=N^+-(CH_2)_x-CH_3)Y^-$  und  $[H_3C]_3-C-CH_2-C(CH_3)_2-X-[O-(CH_2)_2]_2-N^+(CH_3)_2-CH_2-X_2]Y^-$  sind nur zum Teil bekannt, z.B. Hexadecyltrimethylammoniumchlorid und Bromid (Cetyltrimethylammonium-), Hexadecylpyridiniumchlorid bzw. Bromid (Cetylpyridiniumchlorid) und N,N'-Dimethyl-N-2-2-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenoxyethylphenyl methaniumchlorid (Benzethoniumchlorid, Methylbenzethoniumchlorid) und die Benzalkoniumchloride mit Alkyresten von  $C_8H_{17}$  bis  $C_{18}H_{37}$ . Diese genannten  $N^+$ -Tenside haben alle eine kleine kritische Micellbildungskonstante (KMK) im Bereich von  $10^{-4}$ - $10^{-5}$  Mol, je nach Milieubedingungen, wie z.B. Ionenstärke, Temperatur, Druck und Zusatz von organischen Lösungsmitteln bestimmter Dielektrizitätskonstanten. Der Einfluß eines Anions,  $Y^-$ , wie fraktionierte Bindungen, Zahl der Anionen an der Micelloberfläche (Sternlayer) und ihr Einfluß auf die geometrische Form der gesamten kationischen Micelle der oben genannten quartären organischen Ammoniumbasen ist bisher wenig untersucht. So auch die Form dieser o.g. Tenside in Gegenwart von Potenzierungsgemischen, wie Glyzerol, Dimethylsulfoxid, Ethanol, Propanol und ihre Stabilität gegenüber Temperatur und Aufnahmefähigkeit von hydrophoben (lipophilen) pharmazeutischen Wirkstoffen. Hier liegen keine quantifizierbare Untersuchungen auch der o.g.  $N^+$ -Tenside vor.

Tenside der allgemeinen Form ( $HET=N^+-(CH_2)_x-CH_3)Y^-$ , wobei der Heterozyklus ein Benzimidazol-, Pyrimidin-, Imidazol-, Thiazol-, Benz-thiazol oder Purinrest ist sind bislang nicht beschrieben worden, sowie ihr micellares Verhalten in wäßrigen Lösungen in Gegenwart und Abwesenheit von Potenzierungsgemischen. Dies gilt ebenso für substituierte Pyridiniumverbindungen, welche darüber hinaus - wie später gezeigt werden wird - in wäßriger Lösung Vesikel bestimmter Größe und Form bilden können.

Der relativ breite und undifferenzierte Wirkungsmechanismus der bereits bekannten quartären organischen Ammoniumbasen und das damit bedingte Anwendungsgebiet als Antiseptika und ihre toxische Wirkung bei höheren therapeutischen Dosen, hat die Anwendung dieser organischen quartären Ammoniumbasen pharmazeutisch beschränkt. Auch ist für 1 Gew.-%-ige oder höher wäßrige Lösungen, Cremes und Salben hypersensitive, allergische und topische Irritationen beobachtet worden, so daß ein gezielter therapeutischer Einsatz nur bedingt möglich ist.

Bekannt ist die bakterizide Wirkung von Chlorhexidin bei grampositiven und gramnegativen Bakterien, jedoch resistent gegen grammegative Bazillen.

35 Pharmazeutische Präparationen, welche eine gezielte Therapie mit micellar eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoffen, z.B. antiviraler, antifungaler, antineoplastischer Natur in therapeutisch wirksamen Dosen und einer geeigneten pharmazeutischen Zubereitung (Galenik) liegen nicht vor.

Ein großer Nachteil der bisher bekannten pharmazeutischen Zubereitungen von quartären organischen Ammoniumbasen, auch in Gegenwart von Potenzierungsgemischen, liegt in der Polydispersität der kolloidalen micellaren Lösungen. Je nach pharmazeutischer Zubereitungsform, pH-Wert, Ionenstärke, Gegenanion  $Y^-$  und Temperatur liegen in einer pharmazeutischen Zubereitung bislang Micellen verschiedener Form und Größe sowie Stabilität und Aufnahmekapazität von pharmazeutischen Wirkstoffen vor.

Im weitesten Sinne versteht man unter Micellen durch Assoziation gebildete Aggregate von gelösten Molekülen. Im engeren, heute hauptsächlich verwendeten Sinn bezeichnet man als Micellen diejenigen Aggregate, die sich aus Tensid-Molekülen in wäßrigen Lösungen oberhalb einer bestimmten Temperatur (Kraft-Punkt) bzw. einer charakteristischen Konzentration bilden. Diese Konzentration nennt man kritische Micellbildungskonzentration (KMK; englisch: critical micellization concentration, cmc). Beim Überschreiten der KMK bleibt die Monomerenkonzentration praktisch konstant und die überschüssigen Tensid-Moleküle bilden Micellen. Diese können in verschiedener Gestalt (Kugeln, Stäbchen, Scheibchen) auftreten, abhängig von der chemischen Konstitution des Tensids sowohl von Temperatur, Konzentration oder Ionenstärke der Lösung. Die Micellen haben charakteristische Aggregationszahlen mit einer meist nur geringen Verteilungsbreite. Das Erreichen der KMK gibt sich durch sprunghafte Änderungen der Oberflächenspannung, (was man zur Messung der KMK ausnutzt) des osmotischen Drucks, der elektrischen Leitfähigkeit und Viskosität zu erkennen.

55 Bei den Micellen handelt es sich um thermodynamisch stabile Assoziationskolloide grenzflächenaktiver Stoffe, bei denen die hydrophoben Reste der Monomeren im Inneren der Aggregate liegen und durch hydrophobe Wechselwirkung (van-der-Waals-Kräfte) zusammengehalten werden; die hydrophilen Gruppen sind dem Wasser zugewandt und vermitteln durch Solvatation die Löslichkeit des Kolloids.

Weitere Informationen über Micellen finden sich in Römpps Chemielexikon, 8. Auflage, Franckh'sche Verlagsbuchhandlung Stuttgart, 1985, Seite 2600ff.

- Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine pharmazeutische Zubereitung zu schaffen, die den Wirkstoff in möglichst stabiler Form enthält und bei welcher der Wirkstoff am Ort des pathologischen Geschehens möglichst schnell und vollständig freigesetzt wird.

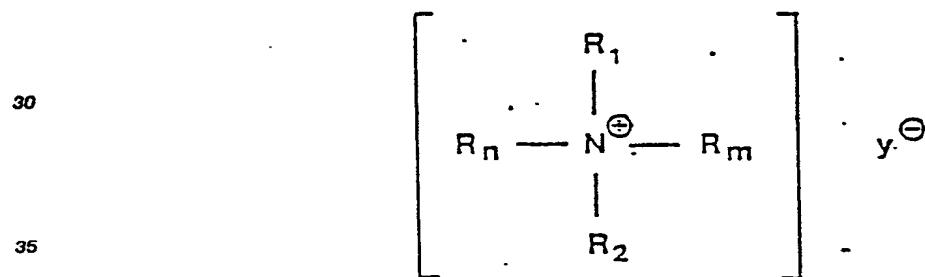
Diese Aufgabe wird erfahrungsgemäß durch eine pharmazeutische Zubereitung gelöst, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie aufgebaut ist aus einer Micelle, bestehend aus einem kationischen Tensid mit einem einwertigen Anion und einem hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoff, dispergiert in einem Lösungsmittel, dessen pH-Wert kleiner  $\leq 7$  ist, wobei die kritische Micellbildungskonzentration (KMK) im Bereich von  $1,0 \cdot 10^{-7}$  bis  $1,5 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter liegt.

Vorzugsweise ist diese pharmazeutische Zubereitung aufgebaut aus einer Micelle, bestehend aus einem kationischen Tensid mit einem einwertigen Anion in einer Menge von 0,01 bis 0,1 Gew.% bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, und einem hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoff in einer Menge von 0,001 bis 0,5 Gew.% bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, dispergiert in einem Lösungsmittel, dessen pH-Wert  $\leq 7,0$  ist, in einer Menge von 99,40 bis 99,989 Gew.% bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, wobei die kritische Micellbildungskonzentration (KMK) im Bereich von  $1,0 \cdot 10^{-7}$  bis  $1,5 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter liegt.

Diese hier beschriebenen Micellen in wässriger Phase haben bei einer hydrophoben Kettenlänge von 15-(CH<sub>2</sub>)-Gruppen einschließlich ihres quartären Stickstoffs im aromatischen Gebilde einen Durchmesser von ~50-100 Å, je nach Natur der Gegenionen.

Beschreibung und Herstellung der quartären Ammoniumbasen:

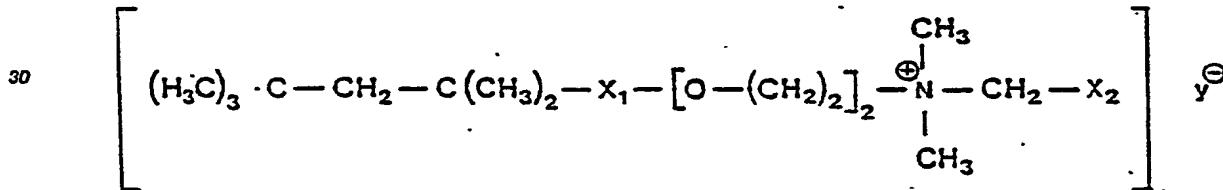
- 25 Das erfahrungsgemäße kationische Tensid ist vorzugsweise eine Verbindung der allgemeinen Formel



- wobei vorzugsweise
- 40  $R_1$  = ein Alkylrest mit 1 - 12 C-Atomen oder ein Aralkylrest,  
 $R_2$  = ein Alkylrest mit 1 - 12 C-Atomen oder ein Aralkylrest,
- 45  $R_n$  = ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest, substituiert oder nicht substituiert, mit 1 - 22 C-Atomen, vorzugsweise 10 - 20 C-Atomen oder ein Alkenylrest mit 8 - 20 C-Atomen, vorzugsweise 8 - 10 C-Atomen oder ein 5-oder 6-gliedriger aromatischer Heterozyklus mit einem oder 2 Stickstoffatomen, und wahlweise einem Schwefelatom oder einem Sauerstoffatom und
- 50  $R_m$  = ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest, substituiert oder nicht substituiert, mit 1 - 22 C-Atomen, vorzugsweise 10 - 20 C-Atomen oder ein Alkenylrest mit 8 - 20 C-Atomen, vorzugsweise 8 - 10 C-Atomen oder ein 5-oder 6-gliedriger aromatischer Heterozyklus mit einem oder 2 Stickstoffatomen, und wahlweise einem Schwefelatom oder einem Sauerstoffatom oder ein Chinoliniumrest und
- 55  $y^-$  = ein einwertiges Anion ist.
- Weitere Vorzugsweise Ausführungsformen sind:  
 Geradketiges oder verzweigtes Alkyl  $R_n$  mit C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>, insbesondere aber C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub>, Kohlenstoffatom, ist beispielsweise n-Heptyl, 2-Methylhexyl, 3-Methylhexyl, 3-Ethylpentyl, 2,2-, 2,3-, 2,4-, oder 3,3-Dimethylpentyl, n-Octyl, 4-Methylheptyl, 2,2,2-, 2,2,4-, 2,3,3-, 2,3,4-Trimethylpentyl, n-Nonyl, n-Decyl, n-Undecyl, n-Dodecyl, n-Tridecyl, n-Tetradecyl, n-Pentadecyl, n-Hexadecyl (Cetyl), n-Heptadecyl, n-Octadecyl, n-Nonadecyl oder n-Eicosyl (Arachinyl).

- Bevorzugt wird ein geradkettiges Alkyl mit einer geraden Anzahl von 10-20 Kohlenstoffatomen, z.B. n-Dodecyl, n-Tetradecyl, n-Hexadecyl (Cetyl), n-Octadecyl oder n-Eicosyl. Sie haben alle die gleiche Bindungs- und Aufnahmekapazität von anorganischen und organischen (hydrophoben) Wirkstoffen, beispielsweise Hg(CN)<sub>2</sub>, ZnEDTA, ZnO, und K<sub>18</sub>(KW<sub>2</sub>Sb<sub>8</sub>O<sub>8</sub>)<sub>17</sub> als anorganische antivirale Wirkstoffe, und Azathioprin, Nystatin, Amphotericin, Idoxuridin, Cytarabin und Trifluorothyridin als organische Wirkstoffe.
- 5 Bevorzugt ist ein Alkenyl mit 12-20 Kohlenstoffatomen für R<sub>n</sub>, wenn R<sub>m</sub> ein Methyl-, Ethyl bis zum Hexyl-Rest ist, speziell ein Alkenyl mit einer Doppelbindung, z.B. 9-cis-Dodeceny, 9-cis-Tetradecenyl, 9-cis-Hexadecenyl, 6-cis-Octadecenyl, 6-trans-Octadecenyl und 9-cis-Octadecenyl.
- R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>m</sub> ist vorzugsweise Methyl-, Ethyl oder auch Hexyl.
- 10 Ein aromatischer Heterozyklus für R<sub>n</sub> der Formel (I) ist ein 5-oder 6-gliedriger Heterozyklus, mit einem oder zwei Stickstoffatomen und wahlweise einem Stickstoff- und einem Schwefelatom z.B. ein Pyridin-, ein Pyrimidin-, ein Pyrazin-(1,4-Diazin), ein Pyrazol-, ein Imidazol-, ein Thiazol- und Purinrest (7N-Imidazolium-[4,5-d]pyrimidin) oder ein benzokondensierter Thiazol- und Imidazolrest z.B. N<sub>3</sub>-Benzimidazol oder Benzthiazol.
- 15 Substituenten dieses Heterozyklus sind am Stickstoffatom sowie gegebenenfalls an einem Kohlenstoffatom ein Niederalkyl, z.B. Methyl oder Aethyl, oder ein Hydroxyniederalkyl, z.B. Hydroxymethyl oder 2-Hydroxyäthyl, Oxo, Hydroxy oder Halogen, z.B. Chlor oder Brom.
- Ein Heterocyclus ist vorzugsweise 2-oder 4-Niederalkylpyridinium z.B. 2-oder 4-Methyl oder 2-oder 4-Aethylpyridinium, Diniederalkylpyridinium z.B. 2,6-Dimethyl-, 2-Methyl-3-äthyl-, 2-Methyl-4-äthyl- oder 2-Methyl-6-äthylpyridinium, 2-, 3- oder 4-Halogenpyridinium z.B. 2-, 3- oder 4-Chlorpyridinium oder 2-, 3- oder 4-Brompyridinium, 2-Niederalkylimidazolinium, -oxazolinium oder -thiazolinium z.B. 2-Methyl- oder 2-Aethylimidazolinium, -oxazolinium oder -thiazolinium oder 2-Niederalkyl-8-halogenchinolinium z.B. 2-Methyl-8-chlorchinolinium.
- 20 Ye ist ein Anion, vorzugsweise Chlorid, Bromid, Jodid oder Ethylsulfat, ein Niederalkonat, wie Formiat, Acetat, Propionat, Hydrogensulfat (HSO<sub>4</sub><sup>-</sup>), Malat oder Fumarat, Salizylat, Alginat oder Glukonat.
- 25 Ein kationisches Tensid der allgemeinen Formel (I) ist vorzugsweise N-Benzyl-N,N-dimethyl-N-2-[2-(4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenoxy)-äthoxy]-äthylammoniumchlorid, N-Benzyl-N,N-dimethyl-N-2[2-(3-methyl-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenoxy)-äthoxy]-äthylammoniumchlorid (Methylbenzethoniumchlorid), n-Dodecyltrimethylammoniumchlorid oder -bromid, Trimethyl-n-tetradecylammoniumchlorid oder -bromid, n-Hexadecyltrimethylammoniumchlorid oder -bromid (Cetyltrimethylammoniumchlorid oder -bromid), Trimethyl-n-octadecylammoniumchlorid oder -bromid, Aethyl-n-dodecyldimethylammoniumchlorid oder -bromid, Aethyldimethyl-n-tetradecylammoniumchlorid oder -bromid, Aethyl-n-hexadecyldimethylammoniumchlorid oder -bromid, Aethyldimethyl-n-octadecylammoniumchlorid oder -bromid, n-Alkyl-benzyltrimethylammoniumchlorid oder -bromid (Benzalkoniumchlorid oder -bromid), z.B. Benzyl-n-dodecyldimethylammoniumchlorid oder -bromid, Benzyltrimethyl-n-tetradecylammoniumchlorid oder -bromid, Benzyl-n-hexadecyldimethylammoniumchlorid oder -bromid oder Benzyltrimethyl-n-octadecylammoniumchlorid oder -bromid, N-(n-Decyl)-pyridiniumchlorid oder -bromid, N-(n-Dodecyl)-Pyridiniumchlorid oder -bromid, N-(n-Tetradecyl)-pyridiniumchlorid oder -bromid, N-(n-Hexadecyl)-pyridiniumchlorid oder -bromid (Cetylpyridiniumchlorid) oder N-(n-Octadecyl)-pyridiniumchlorid oder -bromid oder eine Mischung von diesen Tensiden.
- 30 Ein kationisches Tensid der allgemeinen Formel (I) R<sub>n</sub>Ne(R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>)R<sub>m</sub>Ye ist vorzugsweise mit R<sub>n</sub> = R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> z.B. R<sub>n</sub>Ne(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Ye 3-Methyl-Hexyl-trimethyl-Ammoniumchlorid, n-Nonyl-Trimethyl-Ammoniumbromid, n-Undecyl-trimethyl-Ammoniumchlorid, n-Hexadecyl-trimethyl-Ammoniumchlorid, n-Octadecyl oder n-Eicosyl-trimethyl-Ammoniumbromid mit einer geraden Anzahl von 12-20 Kohlenstoffatomen.
- 35 Auf der Grundlage einer Mikro-Emulsion und/oder Salbe z.B. in Gegenwart bis zu 10 % (g/g) DMSO haben diese N-Tenside gleiche antifungale, antibakterielle und keratolytische Eigenschaften wie die nicht kovalent gebundenen pharmazeutischen Wirkstoffe.
- 40 Die Herstellung der Tenside der allgemeinen Formel R<sub>n</sub> Ne(R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>)R<sub>m</sub>Ye sind analog dem in dem Standardwerk "Cationic Surfactants" von E. Jungermann, Dekker, N.Y., 1970 beschrieben, herzustellen, siehe auch das jährlich neu erscheinende Handbuch "Mc Cutcheon's Emulgifiers and Detergents" Manufacturing Cofectioner Publishing Co.. Andere Alkyl-Pyridinium Halogenide können durch Reaktion von stöchiometrischen Mengen des Pyridinderivates mit langketten Alkylhalogeniden in guter Ausbeute erhalten werden. Andere Verfahren gehen von den entsprechenden, ultra-zyklischen N-Verbindungen und 1,3-Propanmethan aus, wie z.B. bei F.J. Fendler et al. J.Chem.Soc., Perkin Trans III., 1097 (1977) beschrieben. Andere Verfahren, welche zu ähnlich guter Ausbeute führen, sind z.B. bei Attwood, D., Elwarthy, P.H., and Kaye, S.B., J.Phys.Chem. 74, 3529 (1970) beschrieben, sie können analog für die Synthese der Substanzen der Formel II angewendet werden. Die pharmazeutischen Wirkstoffe sind im Handel erhältlich.
- 45 Die Synthese der Verbindungen der allgemeinen Formel R<sub>n</sub>, R<sub>m</sub>, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>Ne Ye oder R<sub>n</sub>, R<sub>m</sub> Ne(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> Ye im speziellen werden nach folgender Vorschrift dargestellt:

- a) Das entsprechende Alkylijodid oder Bromid wird mit einem Überschuß von Trimethylamin (Halogenid: Amin = 1:1,45) für 24 Stunden bei 20°C zur Herstellung der entsprechenden quartären Ammoniumbase im Autoklaven stehen gelassen. Kein anderes Lösungsmittel als Methanol, welches mit dem Trimethylamin oder R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>-Alkylamin gesättigt worden ist, wurde verwendet. Das Reaktionsgemisch wird in ein 5-faches Volumen von Ether eingerührt und am Rückfluß für 20 min erhitzt. Der feste Rückstand, der sich nach Abkühlung in Ether bildet, wird abfiltriert. Umkristallisiert wird aus Chloroform. Die Kristalle werden wiederholte male mit wasserfreiem Ether gewaschen. Die Rekristallisationen bis zum konstanten Schmelzpunkt wurden aus Ethanol/Ether (1:1, % %/g) in Gegenwart von aktivierter Holzkohle vorgenommen. Die Kristalle wurden bei 80 °C über Kalziumchlorid unter Vakuum bei 1 mm/Hg über Nacht getrocknet.
- b) Zur Herstellung von R<sub>n</sub>, R<sub>m</sub>, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>N<sub>3</sub> Y<sup>⊖</sup> werden die entsprechenden Amine R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>-Amine mit den stöchiometrischen Mengen der R<sub>n</sub>, R<sub>m</sub>-Jodide in absolutem Ethanol-Hexan(1:2 % %/g) für 48 Stunden am Rückfluß gekocht. Danach wird die Reaktion abgekühlt und in einen 5-fachen Überschuß von Ether gegossen und abfiltriert. Die Rekristallisation erfolgte wie unter a) angegeben.
- c) Um die quartären Ammoniumhalogenide in die entsprechenden Bromide, Chloride oder auch Jodide umzuwandeln, bietet sich folgendes Verfahren an:
- 300 g Amberlite IRA-400 (4 mequiv/g) als Chloridform vorliegend, werden in einer Säule (45×5 cm) gefüllt und mit 1 Liter einer 20%igen wässrigen Lösung Kaliumchlorid oder Kaliumbromid oder Kaliumjodid oder KY<sup>⊖</sup> bei sehr langsamer Durchflußzeit gewaschen. Die Matrix wurde danach mit deionisiertem Wasser gewaschen bis keine Reaktion auf Chlorid oder Bromid oder Jodid mehr eintrat. Anschließend wurde die 20 Säulenmatrix mit einer 10%igen wässrigen Lösung eines quartären Ammoniumbromides beladen. Die nachfolgende Elution erfolgte mit Wasser bei einer Flußrate von 1 ml/min. Das entsprechende quartäre Ammoniumbromid bzw. -halogenid wurde durch Konzentrieren des Eluates am Rotationsverdampfer erhalten. Die Rekristallisation erfolgte wie unter a) beschrieben. Die nachfolgende Tabelle 4 zeigt einige kationische Tenside der Form R<sub>n</sub> N<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Y<sup>⊖</sup>, welche nach diesem Verfahren hergestellt worden sind.
- Eine Unterkategorie der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) ist die Verbindung der allgemeinen Formel



Es handelt sich um Abkömmlinge der Benzethoniumhalogenide. Durch Substitution der Reste X<sub>1</sub> und X<sub>2</sub> wobei X<sub>1</sub>=X<sub>2</sub> sein kann, können analog hergestellt werden wie sie bereits im US-Patent 2,115,250 von (1938) oder auch nach US-Patent 2,170,111 von (1939) und 2,229,024 von (1941) beschrieben sind. Diese speziellen N-Tenside sind besonders stabil auch in Gegenwart eines Potenzierungsgemisches und haben überraschenderweise eine hohe Aufnahmekapazität zum micellaren Einschluß von pharmazeutischen Wirkstoffen. Außerdem sind sie bei verfahrensgemäßer Herstellung milieunabhängig. Y<sup>⊖</sup> ist ein Anion z.B. Chlorid, Bromid und auch Jodid, ein Niederkonat, wie Formiat, Acetat, Propionat, Malat oder Fumarat, Salizylat, Alginat oder Glukonat.

45

50

55

5

Tabelle 4:  
 Preparation und Schmelzpunkt, sowie Elementaranalyse der quartären Ammonium-  
 Verbindungen des Typus  $RN^+(CH_3)_3Y^-$  aus  $R_n$ ,  $R_m$ ,  $R_1$ ,  $R_2$   $N^9 Y^9$  mit  $R_1=R_2$  und  $R_n=R_m$ .

10	Nr.	R	$Y^9$	KMK Mol	Fp. °C	Analyse gefunden			
						C	H	N	Y
	1	Methyl	Br	$1,5 \times 10^{-5}$	-				
15	2	Ethyl	I	$2,0 \times 10^{-5}$	>300 <sup>c</sup>	27,90	6,56	6,49	
					>300 <sup>d</sup>	27,92	6,56	6,51	
20	3	n-Propyl	I	$2,0 \times 10^{-5}$	190	31,51	7,05	6,09	
					189	31,46	7,04	6,11	
25	4	Isopropyl	I	$3,5 \times 10^{-5}$	>300	31,50	7,08	6,09	
					316	31,46	7,04	6,11	
30	5	n-Butyl	I	$4,1 \times 10^{-5}$	231	34,69	7,48	5,72	
					226	34,58	7,46	5,76	
35	6	t-Butyl	I	$6,0 \times 10^{-5}$	256	34,66	7,47	5,72	
					260	34,58	7,46	5,76	
40	7	n-Pentyl	I	$7,0 \times 10^{-5}$	224	37,28	7,86	5,41	
						37,37	7,84	5,45	
45	8	1-Methylbutyl	I	$1,0 \times 10^{-6}$	224	37,48	7,87	5,43	49,17
						37,37	7,84	5,45	49,34
50	9	n-Hexyl	I	$7,9 \times 10^{-6}$	160	39,68	8,19	5,11	
					166	39,86	8,18	5,16	
55	10	Cyclopentyl	I	$6,0 \times 10^{-6}$	271	37,78	7,13	5,41	49,63
						37,66	7,11	5,47	49,74
60	11	Cyclohexyl	I	$7,1 \times 10^{-6}$	271	40,25	7,48	5,18	
						40,16	7,49	5,20	
65	12	Allyl	I	$1,5 \times 10^{-7}$	104	31,81	6,22	6,15	55,76
					102	31,73	6,21	6,17	55,89
70	13	2-Propynyl	I	$6,0 \times 10^{-5}$	181	32,09	5,40	6,19	56,29
						32,01	5,37	6,22	56,39
75	14	3-Butenyl	I	$3,5 \times 10^{-5}$	236	34,93	6,70	5,78	52,56
						34,87	6,69	5,81	52,63

	Nr.	R	Y <sup>9</sup>	KK Mol	Fp. °C	Analyse gefunden			
						C	H	N	Y
5	15	Phenyl	I	$7,0 \times 10^{-5}$	227	41,12	5,38	5,31	48,15
					227	41,08	5,36	5,32	48,23
10	16	Benzyl	I	$7,3 \times 10^{-5}$	179	43,33	5,82	5,00	
					179	43,33	5,82	5,05	
15	17	4-Chlorbutyl	I	$5,1 \times 10^{-6}$	182	29,42	5,97	5,01	
						30,28	6,17	5,05	
20	18	4-Brombutyl	I	$7,0 \times 10^{-6}$	131	25,30	5,40	4,62	
						26,10	5,32	4,35	
25	19	4-Jodbutyl	I	$1,5 \times 10^{-7}$	160	23,43	4,75	4,00	67,80
						22,78	4,64	3,79	68,79
30	20	2-Ethoxyethyl	Br	$2,0 \times 10^{-7}$	174	39,07	8,44	6,49	38,48
						39,63	8,55	6,60	37,67
35	21	2-Phenoxyethyl	Br	$1,5 \times 10^{-7}$	162	50,74	6,98	5,34	30,79
						50,78	6,97	5,38	30,71
40	22	p-Methylbenzyl	Br	$2,0 \times 10^{-7}$	197	53,97	7,78	5,66	32,49
						54,10	7,43	5,74	32,72
45	23	p-Fluorbenzyl	Br	$2,5 \times 10^{-7}$	237	48,32	6,10	5,61	
						48,40	6,09	5,65	
50	24	p-Chlorbenzyl	Br	$3,0 \times 10^{-5}$	207	45,39	5,71	5,29	
						45,39	5,75	5,26	
55	25	p-Brombenzyl	Br	$4,0 \times 10^{-5}$	220	38,93	4,92	4,52	51,59
						38,86	4,89	4,53	51,71

Das erfindungsgemäße kationische Tensid ist vorzugsweise eine Verbindung der allgemeinen Formel  
[ $\text{HET} = \text{N}^+ - (\text{CH}_2)_x - \text{CH}_3$ ] Y<sup>-</sup>

wobei

HET=N<sup>+</sup> - ein substituierter oder nichtsubstituierter Pyridiniumrest oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Pyrimidiniumrest oder  
ein substituierter Pyrazin-(1,4-Diazinium)rest oder  
ein Imidazoliumrest (4,5-d)pyrimidin Rest substituiert oder nicht substituiert, oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Imidazolium-Rest oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Pyrazoliumrest, oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Thiazoliumrest, oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Benz-thiazoliumrest, oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Benz-imidazoliumrest,

x = 8 bis 20 und

y<sup>-</sup> = Chlorid, Bromid, Jodid, Formiat, Acetat, Propionat, Hydrogensulfat, Malat, Fumarat, Salicylat, Alginat, Glukonat oder Ethylsulfat  
bedeuten.

Vorzugsweise Ausführungsformen dieses kationischen Tensids sind folgende Verbindungen:

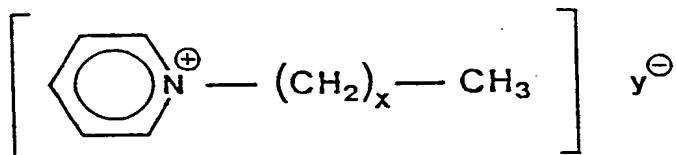
In den folgenden Ausführungsformen, in denen  $y^-$  vorkommt, bedeutet dieses  $y^-$  jeweils eines der vorstehenden dreizehn Anionen.

5

N-Alkyl-pyridinium der Formel

10

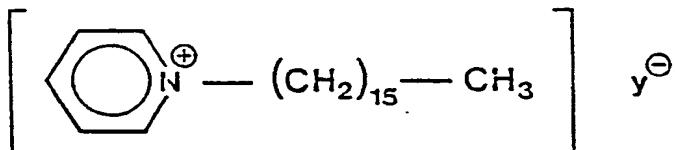
15



20

Hexadecylpyridinium der Formel

25

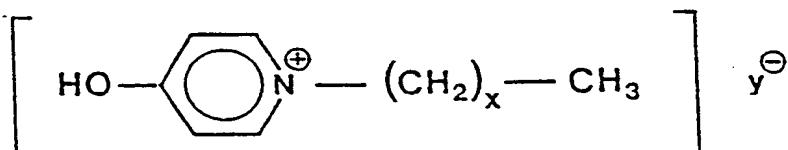


30

N-Alkyl-4-hydroxypyridinium der Formel

35

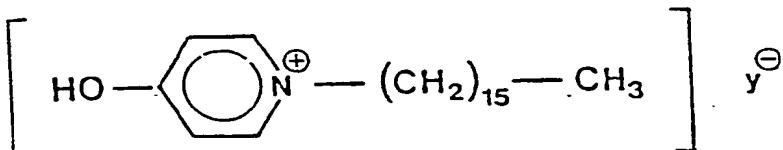
40



45

Hexadecyl-4-hydroxypyridinium der Formel

50



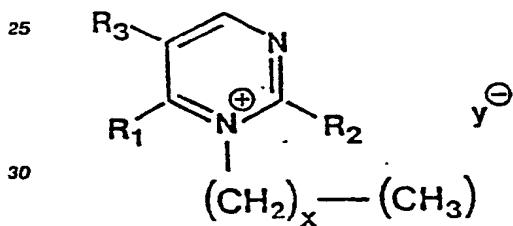
55

5

10

15

2,5,6 substituierte  $N_1$ -Alkyl-pyrimidinium-Verbindungen  
der Formel



- $R_1 = R_2 = R_3 = H$   
 $R_1 = NH_2; R_2 = OH; R_3 = H$   
 $R_1 = NH_2; R_2 = OH; R_3 =$   
 $R_1 = OH; R_2 = OH; R_3 = CH_3$   
 $R_1 = OH; R_2 = OH; R_3 = H$   
 $R_1 = F; R_2 = OH; R_3 = H$   
 $R_1 = OH; R_2 = OH; R_3 = F$

35

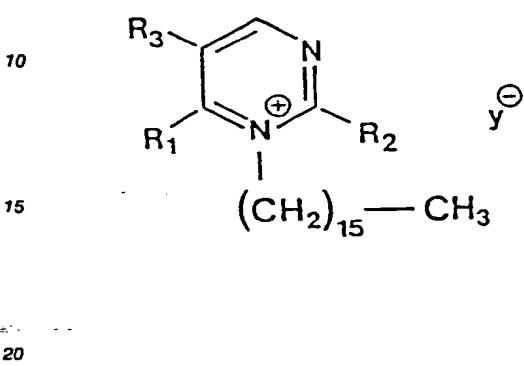
40

45

50

55

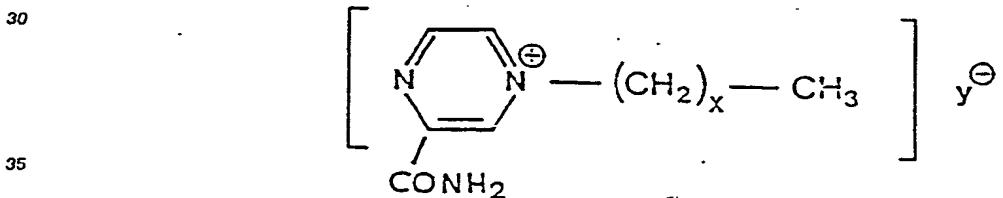
5



- $R_1 = R_2 = R_3 = H$
- $R_1 = NH_2; R_2 = OH; R_3 = H$
- $R_1 = NH_2; R_2 = OH; R_3 =$
- $R_1 = OH; R_2 = OH; R_3 = CH_3$
- $R_1 = OH; R_2 = OH; R_3 = H$
- $R_1 = F; R_2 = OH; R_3 = H$
- $R_1 = OH; R_2 = OH; R_3 = F$

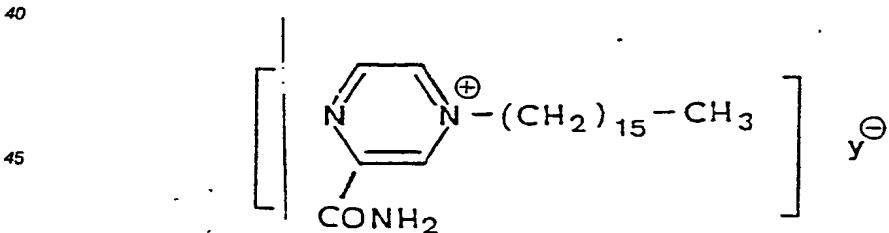
25

4-n-Alkyl-pyrazinium-2-carboxamid der Formel



40

4-Hexadecylpyrazinium-2-carboxamid der Formel

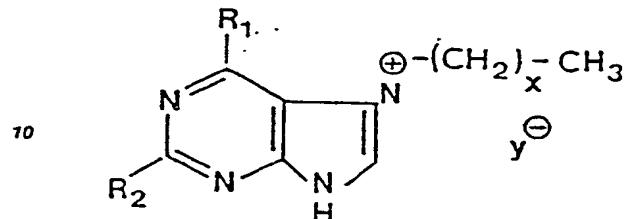


50

7-n-Alkyl-imidazolium [4,5-d]-pyrimidin der Formel

55

5



- $\text{R}_1 = \text{OH}; \text{R}_2 = \text{OH}$   
 $\text{R}_1 = \text{H}; \text{R}_2 = \text{H}$   
 $\text{R}_1 = \text{F}; \text{R}_2 = \text{NH}_2$   
 $\text{R}_1 = \text{F}; \text{R}_2 = \text{OH}$   
 $\text{R}_1 = \text{NH}_2; \text{R}_2 = \text{H}$   
 $\text{R}_1 = \text{NH}_2; \text{R}_2 = \text{NH}_2$

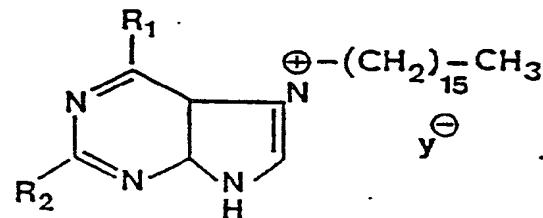
15

20

25

7-Hexadecylimidazolium [4,5-d]pyrimidin der Formel

30



- $\text{R}_1 = \text{OH}; \text{R}_2 = \text{OH}$   
 $\text{R}_1 = \text{H}; \text{R}_2 = \text{H}$   
 $\text{R}_1 = \text{F}; \text{R}_2 = \text{NH}_2$   
 $\text{R}_1 = \text{F}; \text{R}_2 = \text{OH}$   
 $\text{R}_1 = \text{NH}_2; \text{R}_2 = \text{H}$   
 $\text{R}_1 = \text{NH}_2; \text{R}_2 = \text{NH}_2$

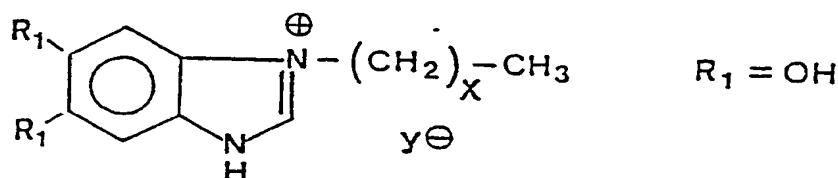
35

40

3-n-Alkyl-5,6-substituierte Benzimidazolium-Verbindungen  
der Formel

45

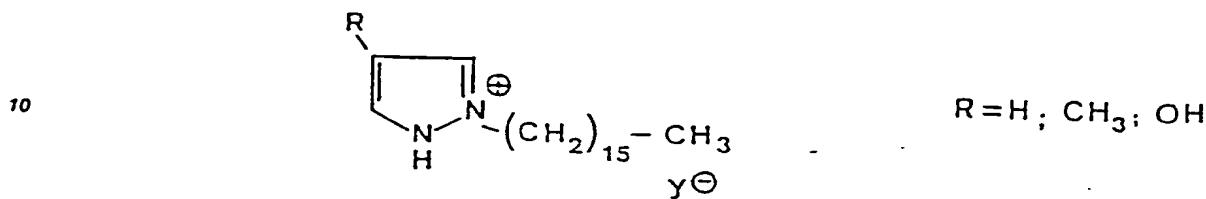
50



55

*4-substituierte 2-Hexadecylpyrazolium-Verbindungen der Formel*

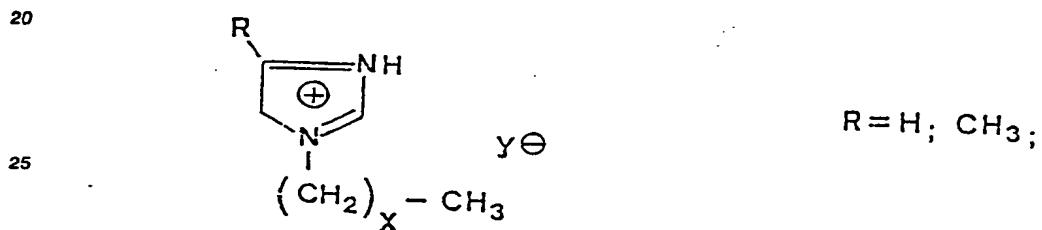
5



15

*1-n-Alkyl-4-substituierte Imidazolium-Verbindungen*

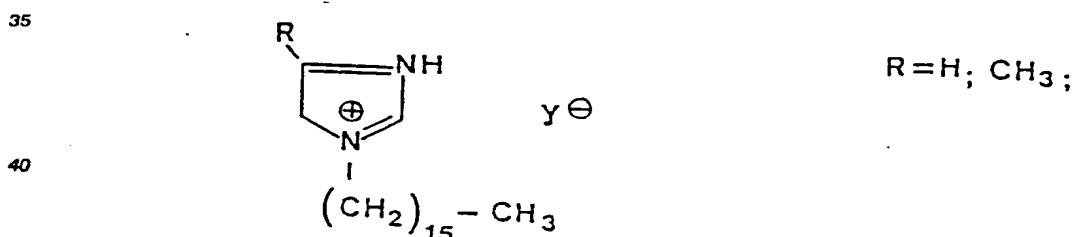
20



30

*1-Hexadecyl-4-substituierte Imidazolium-Verbindungen der Formel*

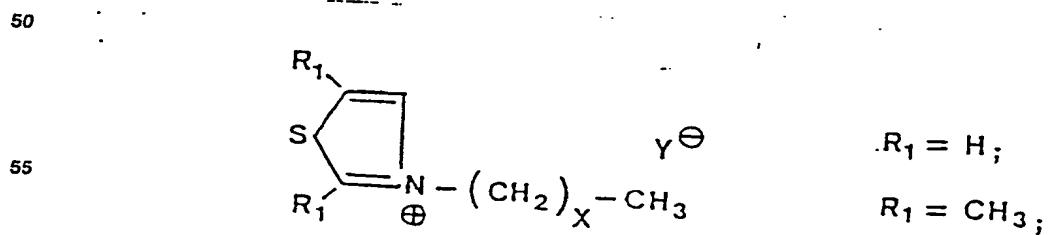
35



45

*3-n-Alkyl-5,6-substituierte Thiazolium-Verbindungen der Formel*

50

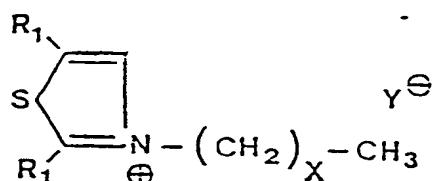


5

## 3-n-Hexadecyl-5,6-substituierte Thiazolium-Verbindungen der Formel

10

15



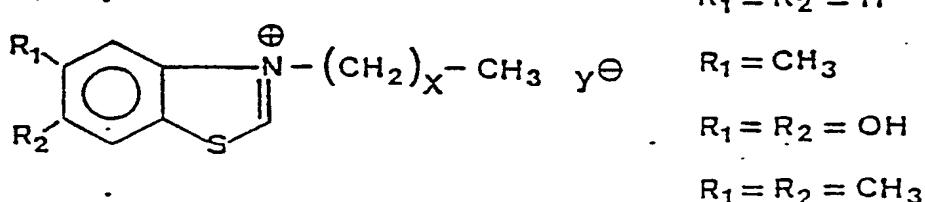
$\text{R}_1 = \text{H};$   
 $\text{R}_1 = \text{CH}_3;$

20

## 3-n-Alkyl-5,6-substituierte Benzothiazolium-Verbindungen der Formel

25

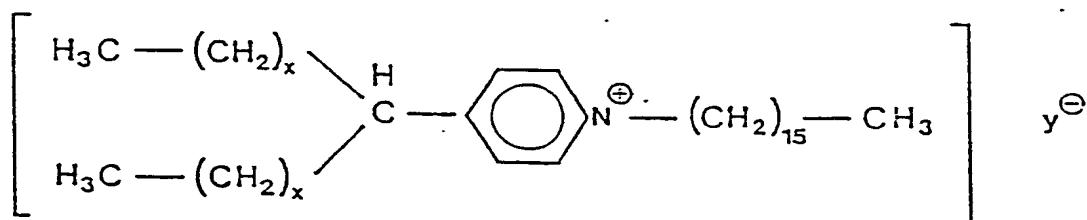
30



35

4-[1,1bis n-Alkyl-(Niederalkyl)] N-Hexadecylpyridinium-Verbindungen  
der Formel

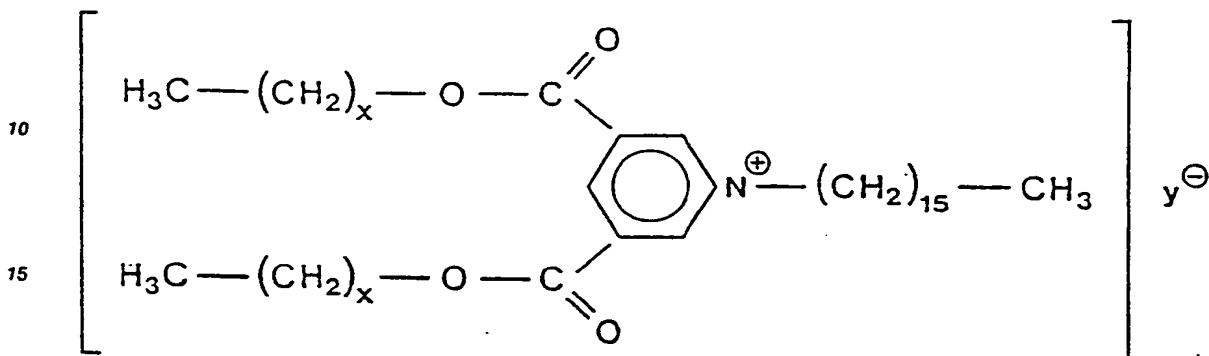
40

45  
50

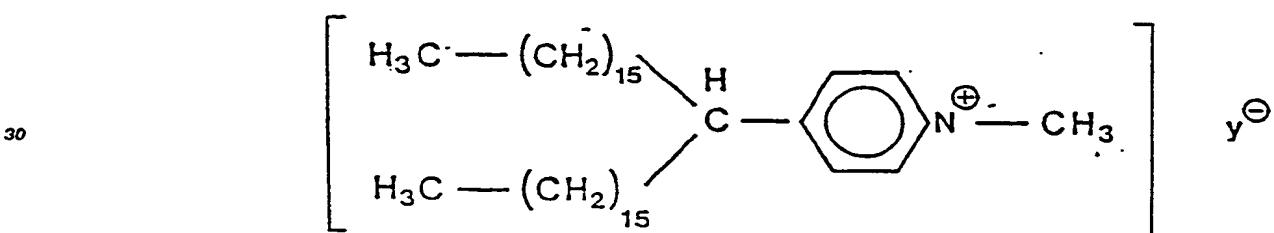
55

3,5 bis [(n-Alkyloxy)carbonyl]-N-Hexadecylpyridinium-Verbindungen  
der Formel

5



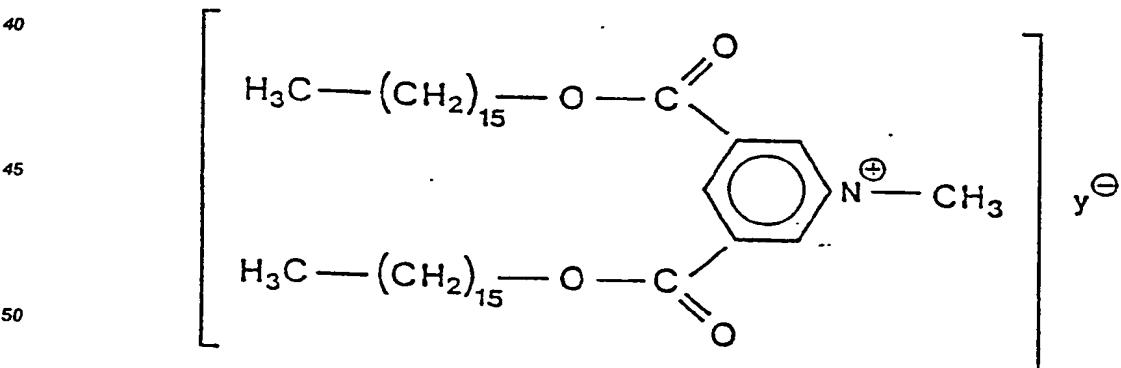
25



35

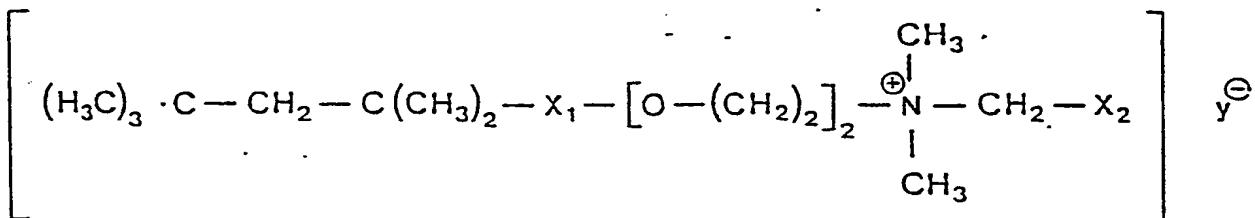
3,5bis[(n-hexadecyloxy)carbonyl]-N-methyl-pyridinium-  
chlorid

40



55

Kationische Tenside der allgemeinen Formel



- 10 wobei  
 $x_1$  = ein nichtsubstituierter oder in der 4-Stellung oder in der 3,5-Stellung oder in der 1,2,4,5-Stellung substituierter Phenylrest,  
 $x_2$  = ein nichtsubstituierter oder in der 4-Stellung oder in der 3,5-Stellung oder in der 1,2,4,5-Stellung substituierter Phenylrest und  
15 y. = die Anionen gemäß dem Patentanspruch 78 bedeuten.

20 Generelles zur Herstellung der  $(\text{HET}=\text{N}^+-(\text{CH}_2)_x-\text{CH}_3) \text{Y}^-$ -Verbindungen II:

- Die erfundungsgemäßen kationischen Tenside der allgemeinen Formel II, außer Hexadecylpyridiniumhalogenid, sind neu.  
In dem kationischen Tensid der allgemeinen Formel II ist HET =  $\text{N}^+$  vorzugsweise ein substituierter oder nichtsubstituierter Pyridiniumrest oder ein substituierter oder nicht substituierter Pyridiniumrest oder ein substituierter Pyrazin-(1,4-Diazinium)rest oder ein Imidazoliumrest (4,5-d)pyrimidin Rest substituiert oder nicht substituiert, oder ein substituierter oder nicht substituierter Imidazolium-Rest oder ein substituierter oder nicht substituierter Pyrazoliumrest, oder ein substituierter oder nicht substituierter Thiazoliumrest oder ein substituierter oder nicht substituierter Benz-thiazoliumrest, oder ein substituierter oder nicht substituierter Benz-imidazoliumrest.
- 30 Diese kationischen Tenside sind dadurch charakterisiert, daß sie eine sehr kleine Micellbildungskonstante (KMK) von ungefähr  $1,5 \times 10^{-7}$  Mol haben, sehr stark antimikrobiell, antifungal wirksam sind, keine Polydispersität in Gegenwart von anorganischen Anionen bzw. Potenzierungsgemischen zeigen, und z.T. selbst mikrobielle Stoffwechselprodukte (Antimetabolite) sind, die nicht toxisch für die Wirtzelle sind.

Die Ausbildung der salzartigen Struktur dieser Klasse von kationischen Tensiden der Form  $(\text{HET}=\text{N}^+(\text{CH}_2)_x-\text{CH}_3) \text{Y}^-$  ist u.a. in der Elektronendichte-Verteilung der heteroaromatischen Kerne bzw. in ihrer Basizität, einschließlich des Einflußes der Substituenten, begründet. Eine notwendige Bedingung, welche zur Ausbildung von quartären Salzen dieser fünf- und sechsgliedrigen heteroaromatischen Klasse führt, besteht darin, daß die Elektronendichte am Stickstoff, welcher quartärniert wird, nach MO-SCF-Rechnungen einen Betrag von -0,08 (z.B. Pyrazin-N4) bis -0,159 (z.B. Imidazol-N1, Purin-N7) haben muß. Die Stabilität der einzelnen hier beschriebenen heterozyklischen kationischen Tenside wird außerdem noch durch ihre Symmetrie und Kettenlänge der Alkylkette am quartären Stickstoff bestimmt:

Im Falle des Imidazols, Benzimidazols z.B. wird durch die Ausbildung des Salzes am quartären Stickstoff N1 und das freie Elektronenpaar am N3 und der dadurch bedingten hohen Symmetrie stabilisiert. Ähnliches gilt für das H5-Tautomere des Purins und seiner symmetrisch angeordneten Substituenten, welche die negativen Ladungen am N1 (-0,124), N3 (-0,108) und N9 (-0,149) dergestalt beeinflussen, daß die Quartärnisation am N9 bevorzugt wird, indem sich die o.g. Reihe N1 → N3 → N9 umkehrt. Durch die Wahl von geeigneten Lösungsmitteln kann man die Ausbeuten erhöhen. Während für Pyridin-, Pyrimidin- und Imidazolreste symmetrische Effekte am Kern eine wesentliche Rolle spielen, ist z.B. bei Pyrazin der elektronische Effekt in der 2-Stellung bedeutend, jedoch gibt es auch sehr starke induktive Effekte (z.B. 2-Amino-Gruppe), weniger als Mesomere. Dies gilt auch für das Pyrazol.

Die Länge der Alkylkette am quartären Stickstoffatom bestimmt nicht nur Schmelzpunkt und Hyrophobizität der später in wässrigen Lösungen gebildeten kationischen Micellen, sondern auch die Ausbeuten nehmen mit zunehmender Kettenlänge ab, während die Reaktionszeiten z.B. in Nitrobenzol oder 2-Ethoxyethanol zunehmen.

Stabile und leicht kristallierbare Verbindungen werden für C12-C18 erhalten, wobei das Gegenion Y ausnahmslos Bromid und Chlorid ist. Die anderen Verbindungen können leicht aus Aceton oder Chloroform umkristallisiert werden. Die entsprechenden Jodverbindungen sind temperatur- und lichtempfindlich.

Spezielle Herstellung der (HET=Ne-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-CH<sub>3</sub>) Y-Verbindungen.

- a) Die entsprechenden Verbindungen des Pyridins oder substituierten Pyridins als sechsgliedriger Heterozyklus lassen sich aus der entsprechenden Alkylbromiden oder Jodiden in Methanol bei 35 °C und Pyridin bzw. substituierten Pyridinen mit einer Ausbeute von 70 % herstellen. Die entsprechenden molaren Mengen des Alkylbromides, die fast alle im Handel erhältlich sind, aber durch Hochdruckflüssigkeitsschramatographie (HPLC) präparativ nachgereinigt werden müssen, werden zunächst in Methanol (10facher Volumenüberschuss gemessen am Pyridin) gelöst, und unter Stickstoff die stöchiometrische Menge Pyridin, das ebenfalls in Methanol gelöst ist, unter Rühren zugetropft. Es wird über 6 Stunden unter Rühren am Rückfluß bei 70°C erhitzt, so daß die Reaktionsausbeute fast quantitativ ist. So ist z.B. die Ausbeute von Hexadecyl-4-hydroxy-pyridiniumchlorid oder Bromid in Methanol als Lösungsmittel 95 %, mit Ethanol 80 % und in Ether/Ethanol nur 40 %. Dodecylpyridinium-chlorid wird mit einer Ausbeute von fast 70 % erhalten. 3,5-Dihydroxy-dodecylpyridinium-bromid bildet sich quantitativ nach der vorhergehenden Vorschrift aus Dodecyl-bromid und 3,5-Dihydroxypyridin in siedendem Chloroform nach 4 Stunden (Schmelzpunkt 180°C).
- Reinigung der entsprechenden Pyridiniumverbindungen. -Durch wiederholtes Umkristallisieren aus Gemischen von Methanol/Ether, beginnend mit 4/60(%)v; 5/50(%)v und schließlich 9/10(%)v erhält man die gewünschten Produkte mit konstantem Schmelzpunkt, einheitlich Molekulargewicht und spezifischer Oberflächenaktivität (gemessen durch die Konzentrationsabhängigkeit der Oberflächenspannung). Außerdem zeigen diese Verbindungen die vorne geschilderten typischen <sup>1</sup>H-NMR-Signale. Die zahlreichen CH<sub>2</sub>-Gruppen und die CH<sub>3</sub>-Gruppe erzeugen eine deutlich sichtbare Absorptions schwung im IR-Spektrum bei 2930 cm<sup>-1</sup> und 2850 cm<sup>-1</sup> (Methylengruppe) eine mittelschwache Bande bei 2960 cm<sup>-1</sup> und eine schwache bei 2870 cm<sup>-1</sup>, welche der Methylgruppe zugeordnet werden kann. Eine schnelle und quantitative Trennung der n-Alkyl-pyridiniumhalogenide von nicht umgesetzten n-Alkylbromiden und Pyridin wird durch präparative Hochdruckflüssigkeitsschramatographie auf einer RP18-Säule mit Hilfe des Elutionsgemisches bestehend aus 60 %(%)v)Methanol (Ethanol) und Acetonitril 40%(%)v isokratische bei 9,52 atm Säulendruck erreicht (UV-Detektion bei 260 nm).

30 b) Pyrimidin-Verbindungen

- 1.) Hexadecylpyrimidinium -bromid.-0,01 Mol 5-Aminopyrimidin ( 0,95 g) und Hexadecylbromid, 0,01 Mol ( 3,05 g) werden in 20 ml Methanol unter Rühren und Stickstoff bei 20°C 24 Stunden in Gegenwart von katalytischen Mengen (0,5 mg) Natriumamid umgesetzt. Das entstandene N<sub>1</sub>-Hexadecyl-5-aminopyrimidinium-bromid wird in Aceton bei 76°C gelöst, und nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur kristallisiert das N<sub>1</sub>-Hexadecyl-5-aminopyrimidinium-bromid mit Schmelzpunkt 122°C. Ausbeute 35 %. 0,01 Mol von diesem N<sub>1</sub>-Hexadecyl-5-aminopyrimidinium-bromid ( 3,20 g) werden im Methanol/Wasser 50/50 (%)v bei 0°C im Eisbad mit 1 g NaNO<sub>2</sub> und 0,1 ml konzentrierter Bromwasserstoffsäure unter Stickstoff 6 Stunden gerührt. Danach wird das Gemisch auf Raumtemperatur gebracht und anschließend bei 80°C am Rückfluß für 2 Stunden unter Stickstoff und Röhren erhitzt. Das entstandene Hexadecylpyrimidinium-bromid wird mit 2-Ethoxyethanol extrahiert und bei 10°C zum Auskristallisieren gebracht. Ausbeute 30 %, Schmelzpunkt 105°C(Bromid)189°C (Chlorid). Präparative Trennung von nicht umgesetzten Produkten kann auch durch Hochdruckflüssigkeitsschramatographie erreicht werden, wie bei den Pyridiniumabkömmlingen beschrieben.
- 2.) In 2,5,6-Stellung substituierte Pyrimidiniumverbindungen werden durch Umsetzung in 2-Ethoxyethanol unter Druck im Autoklaven bei 100°C bei einer Reaktionsdauer von 8 Stunden aus den entsprechenden n-Alkylbromiden bzw. Jodiden und den substituierten Pyrimidinverbindungen mit Ausbeuten zwischen 30 und 40 % erhalten. Die Umkristallisationen werden für alle substituierten Pyrimidiniumverbindungen aus Chloroform vorgenommen.
- 3.) Präparative Trennung von nicht umgesetzten Produkten kann wie vorne beschrieben durch Hochdruckflüssigkeitsschramatographie erreicht werden.
- 3.) N<sub>1</sub>-n-Alkyl-Verbindungen des Pyrimidins können durch Umsatz von n-Alkyl-Mgx(x = Br,Cl) in guten Ausbeuten mit Pyrimidin oder 2,6,5,6-substituierten Pyrimidinen in Gegenwart von 1,2-Dimethoxyethan und/oder n-Heptan erhalten werden. Es findet kein Hetarin oder Additions-Eliminations-oder Eliminations-Additions-Mechanismus statt.
- 0,01 Mol ( 1,0 g) 5-Fluor-pyrimidin werden in 1,2-Dimethoxymethan (100 ml) unter Röhren im Dreihalskolben und unter Stickstoff gelöst. Aus einem Tropftrichter läßt man 0,08 Mol (gleiche Größenordnung wie oben) n-Decylmagnesiumchlorid (oder 0,09 Mol ~ 29,6 g n-Hexadecylmagnesiumbromid), gelöst in 20 ml

Heptan bei 20°C langsam zutropfen. Diese Lösung wird auf 40°C gebracht, für 12 Stunden gerührt und nach abgeschlossener Reaktion werden aus einem Tropftrichter 20 ml 50 Gew.% Bromwasserstoffsäure bei konstanter Temperatur zugetropft. Nach 1 Stunde ist das überschüssige Grignard-Reagenz umgesetzt. Es wird auf 0°C abgekühlt und der evtl. noch bestehende Überschuß von Grignard-Reagenz durch Zusatz von

- 5 Methanol verichtet und die quartären N<sub>1</sub>-Pyrimidiniumbasen durch 2-Ethoxyethanol extrahiert. Die erste Umkristallisation wird aus Chloroform/Methanol bei 0°C durchgeführt, die weiteren Umkristallisationen bei Raumtemperatur.

Schmelzpunkt: 5-Fluor-N<sub>1</sub>-decylpyrimidiniumbromid 199°C (Zers.)

Schmelzpunkt: 5-Fluor-hexadecylpyrimidiniumbromid 175°C (Zers.)

10

c) Herstellung der 7-n-Alkyl-imidazolium 4,5-d pyrimidinderivate (Purin), z.B. 7-Hexadecyl-imidazolium-2,6-dihydroxy[4,5-d] pyrimidinbromid

15 1,5 g 2,6-Dihydroxy-purin (0,01 Mol) werden in 100 ml Aceton im Vierhalskolben bei 35°C gelöst. Aus zwei Tropftrichtern werden unter Rühren und Stickstoff einmal Triethyl-oxoniumborfluorid ( $\text{Et}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$ ) in dreifachem Überschuß (5,7 g = 0,03 Mol) gegenüber n-Hexadecylbromid (3,3 g, 0,01 Mol), das sich in dem zweiten Tropftrichter befindet, gleichzeitig mit n-Hexadecyl-Br zugetropft. Die Reaktion wird unter stetem Rühren über 6 Stunden bei 40°C gehalten und anschließend 10 Stunden bei 65°C am Rückfluß

20 gekocht. Nach Abschluß der Reaktion setzt man 100 ml Ethanol zu, filtriert die gebildete quartäre Ammoniumbase über einen Glassintertiegel (1G4) ab und kristallisiert aus einem Gemisch bestehend aus 2-Ethoxyethanol/Chloroform, 1:1 um. Ausbeute: 0,5 g, Schmelzpunkt: 122°C.

Die Verbindung ist hygroskopisch und bildet ein kristallines Adukt mit zwei Teilen Chloroform.

Die UV-Spektren zeigen die typischen Absorptionseigenschaften der Purinderivate. Desgleichen die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren, gemessen in d<sub>6</sub>-Me<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>.

d) Die entsprechenden Benzothiazole-und Benzimidazol-n-Alkyl-Verbindungen, vor allem wenn sie in der 2-Stellung halogeniert sind, bilden sich nach diesem Verfahren mit einer Ausbeute von 50 % und sind sehr leicht aus Chloroform umzukristallisieren.

e) Die entsprechenden quartären Salze des Pyrazols lassen sich ebenfalls nach dem Verfahren c) herstellen. Auch kann nach Verfahren b3) durch Einsatz von n-Hexylmagnesiumbromid bzw. n-Alkylmagnesiumchlorid arbeiten, da weder ein Additions-Eliminations-noch ein Eliminations-Additions-Mechanismus abläuft. Die 4-H-Pyrazoliumsalze mit R=CH<sub>3</sub>, OH, H bilden sich mit hoher Ausbeute von 60 %.

Da der n-Alkyrest sowohl am N<sub>1</sub> wie auch am N<sub>2</sub> oder beides lokalisiert sein kann, ist es notwendig, das Reaktionsprodukt durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie auf eine RP-18-Säule in einem Aceton/Acetonitril-Elutionsgemisch zu trennen wie vorne beschrieben. Dies ist auch notwendig, wenn das entsprechende n-Alkylbromid im Bombenrohr oder Autoklaven mit einem Pyrazolabkömmling bei 100°C in Gegenwart von Piperidin zur Reaktion gebracht werden. Das Verhältnis von Di-N-substituierten zu Mono-N<sub>2</sub>-substituierten Pyrazoliumabkömmingen verhält sich wie 1,5:1.

f) Die Imidazolium-Verbindungen, die N<sub>1</sub>-substituierten wie auch die N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>-disubstituierten lassen sich wie die entsprechenden Pyridiniumverbindungen herstellen.

Zur Herstellung der N<sub>1</sub>-substituierten Imidazolium-Verbindungen verfährt man wie unter b3) beschrieben.

Die Ausbeuten liegen bei 30 %. Als geeignetes Reaktionsmedium empfiehlt sich Aceton.

g) Die Quartärnisation des Pyrazins am N<sub>4</sub>, wenn in 2-Stellung substituiert ist, erfolgt mit 50%iger Ausbeute. Wenn in 2-Stellung z.B. ein Chlor oder eine Carboxamid (Carbamoyl-) Gruppe angesiedelt ist.

45 Wenn gemäß Vorschrift b1) verfahren wird, erhält man Ausbeuten von 20-30 % je nach Größe des Alkyrestes. Verfährt man nach der bekannten Herstellung von Pyridiniumverbindungen (a) erhöhen sich die Ausbeuten auf 50 %.

Wie gewöhnlich und vorne ausgeführt bestimmt die (CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-Kette mit X=10-20 die Größe und die KMK in wässrigen Lösungen. Die gebildete Größe, Form und Molekulargewichtsverteilung der Micelle in wässriger 50 Lösung bei pH <7,0 wird nach der Natur des Gegenions Y<sup>-</sup> bestimmt.

Die kovalent gebundenen pharmazeutischen Wirkstoffe können z.B. auf 9-β-Arabino-1,4-adenin, 5-Fluorcytosin, Acaturidin, 6-Mercaptopurin oder Thioguanin ausgedehnt werden. Hierzu gehören auch die Nukleoside bzw. Nukleotide der Thymidin-Reihe, die das Wachstum von neoplastischen Tumoren hemmen, u.a. durch Inhibierung der DNS-Synthese. Auch die antiviralen Stoffe der 1,3,5-Triazine, z.B. das 2-Acetamido-4-morphino-1,3,5-Triazin, welches virustatische Eigenschaften gegen Herpes zoster besitzt, sind zu nennen.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

55

Tabelle 2.

Charakteristische Eigenschaften der N<sup>0</sup>-Tenside der allgemeinen Formel IET N<sup>0±</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-CH<sub>3</sub> Y<sup>θ</sup>

Nr.	IET N <sup>0±</sup> (CH <sub>2</sub> ) <sub>x</sub> -CH <sub>3</sub>	Y <sup>θ</sup>	Fp °C	Analyse (%) gefunden			K <sub>N</sub> x 10 <sup>-6</sup>
				C	H	N	
1.	Hexadecyl-4-hydroxy-pyridinium	Br + 1/2 H <sub>2</sub> O	85	59,86	10,94	4,37	24,81
2.	Dodecyl-pyridinium	Cl + H <sub>2</sub> O	73	71,46	11,20	4,90	1,52
3.	2-Hydroxy,6-amino-hexadecyl-pyridinium	Cl	155	61,45	18,69	10,76	9,10
4.	Hexadecyl-pyridinium	Br	105	62,02	10,09	7,25	2,50
5.	2,6-Dihydroxy,5-fluor,hexadecyl-pyridinium	Cl + 2 H <sub>2</sub> O	172	61,13	22,68	7,14	9,05
6.	2-Hydroxy,5-methyl,6-amino-hexadecyl-pyridinium	Br	192	56,18	16,67	9,36	1,00
7.	Dodecyl-pyridinium	Cl	85	64,79	13,78	9,45	1,20
8.	2,6-Dihydroxy-dodecyl-pyridinium	Br	70	53,07	17,12	7,75	22,06
9.	2-Carboxamid-4-hexadecyl-1,4-diazinium	Cl	195 (Zers.)	71,30	6,77	11,89	0,30
10.	7-Hexadecylimidazolin-2,6-dihydroxy[4,5-d]pyrimidin	Cl + 1 H <sub>2</sub> O	112	60,80	17,13	13,51	0,50

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

20

Fortsetzung Tabelle 2

11.	7-hexadecylimidazolium-2,6-diamino-[4,5-d]pyrimidin	Br + 1/2 H <sub>2</sub> O	170(Zers.)	55,17	8,93	18,41	17,49	1,30
12.	3-hexadecylbenzimidazolium	Cl + H <sub>2</sub> O	100	72,53	10,80	7,35	6,70	
13.	4-Methyl-2-hexadecyl- pyrazolium	Cl	172	69,67	11,89	8,14	0,70	
14.	5-Methyl-1-hexadecylimidazolium	Cl	142	69,69	11,89	8,12	3,90	
15.	3-hexadecylthiazolium	Br + 2 H <sub>2</sub> O	155	58,20	17,83	3,59	0,91	
16.	2,5-Dimethyl-3-hexadecyl- thiazolium	Br + 1 H <sub>2</sub> O	170(Zers.)	57,15	20,50	3,34	19,01	15,00
17.	3-hexadecyl-6-methyl-imid- azolium	Cl + 2 H <sub>2</sub> O	119(Zers.)	69,81	14,13	7,09	17,00	
18.	3-Dodecyl-6-methyl-benzimid- azolium	Br + 1 H <sub>2</sub> O	98	59,40	12,52	7,29	7,30	
19.	3-hexadecyl-5,6-dihydroxy- benzthiazolium	Cl + 2 H <sub>2</sub> O	70	60,60	28,54	3,07	7,79	7,90
20.	3-Dodecyl-benzthiazolium	Br + 1 H <sub>2</sub> O	90	70,20	14,57	4,31	10,90	

Tabelle 3

Ausbeuten und hydrodynamischer Radius von N-Tensiden der Formel  
 $\text{HET} \equiv \text{N}-(\text{CH}_2)_x-\text{CH}_3$ , und Benzethonium Abkömmlinge in Abhängigkeit  
von  $y$

	Nr.	Tensid	Gegenion $\text{Y}^\ominus$	$\langle R_H \rangle$ (Å)	Ausbeute (%)
5	1	N-Cetyl-4-methyl-imidazolinium	$\text{Br}^\ominus$ $\text{Cl}^\ominus$ $\text{NO}_3^-$	140,0 70,0 20,0	60 70
10	2	N-Hexadecyl-4-cetyl-imidazolinium	$\text{Cl}^\ominus$ $\text{HSO}_4^-$	100 150	40 30
15	3	N-Hexadecyl-5-carboxamido-pyridinium	$\text{Br}^\ominus$ $\text{Cl}^\ominus$ Fumarat Maleat	120,0 55,0 70,0 120,0	60 60 70 30
20	4	8-Ketohexadecylpyridinium	$\text{Cl}^\ominus$ $\text{Br}^\ominus$ $\text{NO}_3^-$	50,5 140,0 170,0	00 80 100
25	5	Methyl-3-stearylxy-propyl-pyridinium	$\text{Cl}^\ominus$ Salizylat	140,0 1000,0	60 60-80 (20, 25°C)
30	6	Cetyl-2,3-dihydroxy-propyl-hexadecyl-pyridinium	$\text{Cl}^\ominus$ $\text{Br}^\ominus$ $\text{OH}$ Maleat	150,0 180,4 210,4 120,0	20 25 30 41
35	7	3,5-bis [(n-hexadecyloxy-carbonyl)]-N-methyl-pyridinium	Salizylat Fumarat $\text{Cl}^\ominus$	1000 2500 350	60 70 50
40	8	a) 2,-4-Dihydroxy-5-methyl-hexadecyl-pyridinium b) 2,-4-Dihydroxy-5-Fluor-hexadecyl-pyridinium	$\text{Cl}^\ominus$ $\text{Br}^\ominus$ $\text{Cl}^\ominus$	1000 1500 210 150	30 30 30 30
45	9	a) 2-Carboxamid-3-hexadecyl-1,4-pyridinium b) 2-carboxamid-3-dodecyl-1,4-pyridinium	$\text{Cl}^\ominus$ $\text{NO}_3^-$ $\text{NO}_3^-$ Fumarat	220 440 366 750	30 30 30 30
50	10	3-[[(Dimethylamino)-carboxyl]oxyl]-1-hexadecyl-pyridinium	$\text{Cl}^\ominus$ Fumarat $\text{Br}^\ominus$	450 700 1000	30 60 40
55	11	3-hexadecyl-benzimidazolinium	$\text{Cl}^\ominus$ Maleat Fumarat $\text{NO}_3^-$ $\text{SO}_4^{2-}$	300 1500 250 500 350	50 40 30 70 70
	12	Benzylidimethyl[2-[2-(p-1,1,3,3-tetramethylbutyl-p,p'-dimethyl-phenoxy)ethoxy]ethyl]ammonium	$\text{Cl}^\ominus$ $\text{Br}^\ominus$ $\text{NO}_3^-$ Maleat Fumarat Salizylat	150 3000 150 3000 2500 3000	30 40 10 20 25 20

Die folgende Abbildung 6 zeigt die Varianz des hydrodynamischen Radius von Benzethonium-Chlorid und N-Hexadecyl-4-cetyl-imidazolium-salicylat in Abhängigkeit des hydrodynamischen Radius nach verschiedenen ultraschallbehandelten Zeiten in Minuten, gemessen durch inelastische Laser-Lichtstreuung.

5

Weitere vorzugsweise Ausführungsformen der Erfindung:

Während der Gesamtbereich der kritischen Micellbildungskonzentration (KMK) im Bereich von  $1,0 \cdot 10^{-7}$  bis  $1,5 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter liegt, liegt die KMK vorzugsweise im Bereich von 1,0 bis  $8,5 \cdot 10^{-7}$ /Liter.

Vorzugsweise ist das kationische Tensid mit dem einwertigen Anion in einer Menge von 0,05 bis 0,1 Gew.%, bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, enthalten.

Besonders gute Ergebnisse werden erzielt, wenn das kationische Tensid mit dem einwertigen Anion in einer Menge von 0,08 - 0,1 Gew.%, bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, enthalten ist.

Vorzugsweise ist der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff in einer Menge von 0,06 - 0,05 Gew.%, bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, enthalten.

Besonders gute Ergebnisse werden erzielt, wenn der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff in einer Menge von 0,001 - 0,005 Gew.%, bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, enthalten ist.

Vorzugsweise Lösungsmittel sind Wasser oder Wasser + Glycerin oder Wasser + Glycerin + Ethanol.

Vorzugsweise ist das einwertige Anion ein monobasischer oder dibasischer Fettsäurerest.

Vorzugsweise ist das einwertige Anion Acetat, Propionat, Fumarat, Maleat, Succinat, Aspartat oder Glutamat.

Vorzugsweise ist das einwertige Anion ein Zuckerrest.

Vorzugsweise ist das einwertige Anion Glukonat, Galacturonat oder Alginat.

Vorzugsweise ist das einwertige Anion Chlorid, Bromid, Jodid oder Hydrogensulfat.

Vorzugsweise ist der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein antimikrobieller Wirkstoff oder ein antifungaler Wirkstoff oder ein antiproliferativer Wirkstoff oder ein antiviraler Wirkstoff.

Vorzugsweise ist der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff eine anorganische Verbindung der Elemente Zink oder Quecksilber oder Wolfram und/oder Antimon. Vorzugsweise ist dabei die anorganische Verbindung  $Z_nSO_4$  oder  $Z_nO$  oder  $Hg(CN)_2$  oder  $(NH_4)_2S$  oder  $(NaW_2S_2O_8)_2$  oder auch ein Alkali-oder Erdalkalisalz der Phosphorsäure  $ROP(O)Me_2$  oder auch ein N-Phosphonoacetyl-1-aspartat.

Vorzugsweise ist der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein Antibiotikum oder ein antiviraler Wirkstoff oder ein antifungaler Wirkstoff oder ein antineoplastischer Wirkstoff.

Vorzugsweise ist das Lösungsmittel Wasser und/oder Ethanol und/oder Glycerin. Vorzugsweise ist das Lösungsmittel Wasser und/oder Ethanol und/oder Dimethylsulfoxid.

Während der pH-Wert des Lösungsmittels jedenfalls  $\leq 7$  sein muß, ist der vorzugsweise pH-Wert des Lösungsmittels = 5 bzw. in der Nähe von 5.

Die pharmazeutische Zubereitung kann erfindungsgemäß im wesentlichen dadurch hergestellt werden, daß zunächst in einem Reaktionsgefäß das Lösungsmittel vorgelegt wird, dann das kationische Tensid unter Röhren bei Zimmertemperatur zugegeben wird, dann zur entstandenenen isotropen micellaren Lösung der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff unter Röhren bei Zimmertemperatur zugegeben wird und zu dessen vollständiger Lösung weitergeführt wird.

Besonders günstige Ergebnisse werden mit den kationischen Tensiden der allgemeinen Formel II erzielt, wenn  $x = 14$  ist, d.h., wenn die Alkylkette 15 C-Atome aufweist.

Diese geradkettigen  $C_{15}$ -Abkömmlinge der N-Tenside zeichnen sich insbesondere aus durch eine einfache chemische Herstellung. Außerdem haben sie überraschenderweise die niedrigste KMK (diese liegt ca. bei  $2,5 \cdot 10^{-7}$  Mol/Liter). Sie sind weiterhin durch  $Y^-$  sehr leicht zu steuern (Form, Molekulargewichtsverteilung, Polydispersität). Außerdem sind sie variabel aufgrund ihrer Größe der Alkylkette und daher bezüglich Aufnahme der pharmazeutischen Wirkstoffe. Schließlich zeichnen sie sich durch leichte Kristallisierbarkeit aus.

Wie bereits erwähnt, ist der Rest Hexadecylpyridinium an sich (als reine chemische Verbindung) bekannt. Nicht bekannt ist der erfindungsgemäße Einfluß des zugehörigen Anions ( $Y^-$ ) auf die Micellengröße und die Form der Micelle. Im Hinblick auf den anmeldungsgemäß beanspruchten unabhängigen Stoffschatz für alle offenbarten neuen Verbindungen wird deshalb im folgenden ein Oberbegriff offenbart,

der vorzugsweise erfindungsgemäße neue Verbindungen umfaßt. Dieser Oberbegriff lautet "isoelektronische heterozyklische Stickstoffbasen mit 5-oder 6-Ringen, enthaltend entweder 2 N-Atome in 1,2-Stellung bzw. 1,3-Stellung bzw. 1,4-Stellung oder ein S-Atom in 1-Stellung mit einem N-Atom in 3-Stellung".

Herstellungsverfahren für die pharmazeutische Zubereitung:Generelles zur Herstellung der wässrigen Phase:

- 5 Um vorzugsweise eine monodisperse, homogene und isotrope wässrige Lösung der N<sup>+</sup>-Tenside sowohl in Hinsicht auf Form (sphärisch, oval, langgestreckt) und Größe als auch auf Molekulargewichtsverteilung zu erreichen, müssen die angeführten Lösungen einschließlich ihrer eingeschlossenen hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoffe
- a. ultraschallbehandelt werden, z.B. bei 100 Watt, eine Minute, eventuell anschließend dann durch b.
  - 10 b. durch Säulenchromatographie, z.B. auf einer Agarose A 0,5 m, Sepharose 2 B, Sephadex G 200, DEAE-Sepharose C1-6B bei pH 6,0 oder auf einem Ultragel AcA44 (pH 6,0 - 6,5) oder BiO-Gel 1,5 m bei pH ≤ 7,0 nachgereinigt; oder
  - c. auf einem linearen Dichtegradienten, z.B. von 1 - 30 Gew.% Subrose, in einer präparativen Ultrazentrifuge in einem SW-27-Rotor bei 25.000 UpM für 12 Stunden zentrifugiert werden. Bei Anwendung einer Zonal-Zentrifugation bei gleichem Gradienten (20°C) können bei 10.000 UpM große Mengen von homogenen Populationen von Micellen und Vesikeln zentrifugiert werden.
  - d. DEAE-Zellulose-Säulenchromatographie bei pH 5,0 - 6,5 (pH≤7), z.B. durch einen Phosphatgradienten (linear von 0,01M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/0,01M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 6,5 bis zu 0,05M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/0,05M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> im totalen Elutions-Volumen von 1000 ml) gereinigt werden, bis die entsprechende, gewünschte Population von 20 Micellen bzw. Vesikeln erhalten worden ist.

So ist es möglich, die gewünschten homogenen Populationen von Micellen oder Vesikeln einschließlich ihrer eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoffe, in Form von wiederholbaren konstanten Molekulargewichten und geometrischen Formen zu erhalten. Dies ermöglicht Monomere der Tenside von den Micellen als auch von nicht eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoffen quantitativ zu trennen.

25

Herstellung der homogenen, micellaren Lösung in wässriger Phase:

Die wässrige Phase kann reines Wasser sein. In der Regel wird jedoch eine wässrige Lösung eines 30 Elektrolyten gewählt. Z.B. kann eine wässrige Lösung aus NaCl oder CaCl<sub>2</sub> (MgCl<sub>2</sub>) verwendet werden. Zusätzlich können aktive pharmazeutische Wirkstoffe von genannter Art eingeführt werden, die dann micellar gelöst werden auch eventuell unter Beschallung.

Die meisten Verfahren sind auf eine Einkapselung hydrophiler Wirkstoffe beschränkt. Mit der vorliegenden Erfindung ist es möglich, hydrophobe z.B. lipophile anorganische (Hg)CN)<sub>2</sub>) und organische Wirkstoffe 35 (Amphotericin B) micellar einzuschließen. Auch können hydrophile Anionen, die pharmazeutische Bedeutung haben, z.B. Salizylat, je nach Natur des N-Tensides (insbesondere der Formel II) an der externen Oberfläche der Micelle eingeschlossen werden.

Die Erfindung kann dazu verwendet werden, um entweder hydrophile oder lipophile Substanzen oder 40 auch beide Substanzen einzuschließen. Im Falle von hydrophoben Wirkstoffen werden diese dann zusammen mit dem N-Tensid der Formel I und II in einem Glycerin/Ethanol-Gemisch, bestehend aus 15 Gew.% Glycerin, 15 Gew.% Ethanol und 70 Gew.% Wasser oder 50 Gew.% Ethanol und 50 Gew.% Wasser gelöst, eventuell geschüttelt bzw. ultraschall behandelt und anschließend auf die wässrige Phase mit einem Gehalt von Glycerin/Ethanol von maximal 15 g Glycerin, 5 g Ethanol in 100 g Wasser verdünnt. Anschließende Gel-Permeationschromatographie oder präparative HPLC-können ungewünschtes Material entfernen und 45 eine homogene, isotrope Lösung liefern. Während hydrophobe Substanzen vornehmlich über eine organische Phase (50 %) und anschließende Verdünnung (Wasser) hergestellt werden, werden hydrophile pharmazeutische Wirksubstanzen vorzugsweise in der wässrigen Flüssigkeit eingesetzt, die zur Dispergierung der micellaren Lösung benutzt werden. Im Bedarfsfalle können jegliche nicht aufgenommene, aktive Wirkstoffe aus der Dispersion unter Anwendung bekannter Techniken, wie z.B. Dialysieren, Zentrifugieren, 50 Gel-Permeationschromatographie entfernt werden.

Die Form und Größe, als auch der Hydratationsgrad der micellaren Lösungen der N-Tenside ist u.a. abhängig von γ<sup>+</sup>, weniger von der Struktur des Heterozyklus, wohl aber von der hydrophoben Kettenlänge (CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>. So können z.B. in Gegenwart von Br<sup>-</sup> oder Salizylat<sup>-</sup> große stäbchenförmige Micellen von Hexadecylpyridinium erhalten werden von einer Größenordnung von L = 10.000 Å und einem Durchmesser 55 von 100 - 500 Å, während man in Gegenwart von Chlorid Micellen der Größenordnung von 50 - 100 Å in wässriger Lösung erhält. In diesem Falle gibt die Form und Größe der Micelle die Konzentration des zu verkapselnden (micellar) Wirkstoffes an und gestaltet sich somit umgekehrt wie bei Liposomen.

Der Vorteil der Erfindung gegenüber der Verkapselung bei Liposomen liegt

1. in der Dichtigkeit dieser N-Tenside, welche den micellar gebundenen pharmazeutischen Wirkstoff aufgrund der vorne aufgeführten Kräfte nicht freilassen kann und

2. der Steuerung der Form und Größe der Micellen durch Y<sup>-</sup>, damit Steuerung der Aufnahmekapazität an hydrophoben bzw. hydrophilien Wirkstoffen, ohne großen, tiefgreifenden Einfluß des Heterozyklus auf die KMK.

Die erfolgte Bildung der kleinen und großen Micellen der N-Tenside in wäßriger Phase lassen sich anhand von physikalischen Meßmethoden nachweisen, z.B. mit gefriergetrockneten Proben ("freeze fracture") im Elektronenmikroskop oder durch Röntgenkleinwinkel-Streuung, durch dynamische Lichtstreuung, durch Kernresonanzspektroskopie (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C und <sup>31</sup>P), als auch durch Transmissionselektronenmikroskopie.

10 Abb. 2 und 3 zeigen z.B. elektronenmikroskopische Aufnahmen von micellar eingeschlossenem Hg(CN)<sub>2</sub> in Hexadecylpyridinium-und Benzethoniumchlorid.

Im Kernresonanzspektrum ergeben sich scharfe Signale mit schwacher Linienbreite, welche einen Hinweis auf die Bildung von Micellen mit einem Durchmesser kleiner als 600 Å liefert. Scharfe Signale bei δ ca. 0,89 ppm (-CH<sub>3</sub>), δ ca. 1,28 ppm (-CH<sub>2</sub>) und δ ca. 3,23 ppm (-N-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) sind z.B. für die Micellen der N-

15 Tenside der allgemeinen Formel I und II charakteristisch. Für eingeschlossene Wirkstoffe in diesen Micellen der N-Tenside ist ein Methysignal bei δ ca. 0,87 - 0,89 ppm charakteristisch, das jedoch in einem Triplet aufgespalten ist und eine wesentlich geringere Linienbreite hat als das Methysignal, das als Singlett vorkommt bei δ = 0,89 ppm, welches allerdings nur von der Micelle herröhrt.

Diese wäßrigen Phasen, welche die erfahrungsgemäß erhaltenen Micellen mit eingeschlossenen Wirkstoffen enthalten, sind Verabreichungssysteme, die sich gegebenenfalls nach Konzentrierung, z.B. durch Ultrafiltration, Ultrazentrifugation oder Lyophilisieren mit anschließendem Auflösen in einer wäßrigen Phase, für die orale (p.o.) oder topische Verabreichung eignen.

Bei oraler Verabreichung können die micellar gebundenen pharmazeutischen Wirkstoffe der N-Tenside der wäßrigen Phase mit pharmazeutisch unbedenklichen Verdünnungsmitteln oder Trägern oder mit üblichen Zusätzen, z.B. Farbstoffen oder Geschmackstoffen, vermischt und als Sirup oder in Form von Kaseln verabreicht werden.

So besteht eine homogene isotrope micellare wäßrige Lösung vorzugsweise aus einem N-Tensid der Formel II und I mit einem antiviralen Wirkstoff, insbesondere mit Hg(CN)<sub>2</sub>, oder ZnSO<sub>4</sub>, ZnEDTA, Idoxuridin, 5-Ethyl-2'-desoxyuridin oder Trifluorthymidin, Amantadin, Rimantadin ( $\alpha$ -Methyladamantan) und Viderabin (9- $\beta$ -Arabino <1,4>-adenin) und Ribavirin (1- $\beta$ -D-Ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamid) als auch mit 2,6-Di-amino-kuban 1,1':3,3'-Bis-cyclobutan oder einfach substituierte 2,6-di-amino-Verbindungen (CF<sub>3</sub>,Cl,OCH<sub>3</sub>) in Gegenwart oder Abwesenheit von Glycerin/Ethanol dispergiert (20°C; Ionenstärke <0,2 M).

Eine homogene, isotrope micellare wäßrige Lösung besteht aus einem N-Tensid der Formel II und/oder Formel I vorzugsweise mit einem antifungalen Wirkstoff, vorzugsweise mit 5-Fluorcytosin, Clotrimazol, Econazol, Miconazol oder Oxyconazol (Z-Form) als auch mit Amphotericin B, Nystatin und ZnO.EDTA als anorganischer antifungaler Wirkstoff, sowie Hg<sub>2</sub>(CN)<sub>4</sub> (Hg(CN)<sub>2</sub> liegt hier als Polymer vor, wobei das Dimere das zugrundeliegende Bauprinzip ist (in wäßriger Lösung) dispergiert.

Eine homogene, isotrope wäßrige Lösung besteht aus einem N-Tensid der Formel I und/oder der Formel II vorzugsweise mit einem antineoplastischen Wirkstoff, insbesondere 5-Fluorcyanid, Hg(CN)<sub>2</sub>.4 (Ascorbat oder Acetylacetat), Azauridin, Cytarabin, Azarabin, 6-Merkaptopurin, Desoxycoformycin, Azathio-prin, Thioguanin, Vinblastin, Vincristin, Daunorubicin, Doxorubicin in Gegenwart oder Abwesenheit von Glycerin/Ethanol dispergiert.

Eine homogene, isotrope wäßrige Lösung besteht aus einem N-Tenside vornehmlich der Formel II oder der Formel I vorzugsweise mit Aminoglykoside wie z.B. Canamycin, Gentamycin, Neomycin etc. oder Tetrazyklinen, Chloramphenicol oder Erythromycin als bakteriostatische (grampositive) oder Clindamycin (gegen nicht sporenbildende anaerobe Bakterien) oder Rifampicin als bakteriziden, als auch Bacitracin, Tyrotricin und Polymycine in Gegenwart oder Abwesenheit von Glycerol/Ethanol dispergiert.

Die homogene Mischung kann auch anschließend in Gelen auf der Basis von Alginat, Hydrogelstrukturen wie z.B. Sephadex Agarose, Propyl-zellulose, Propyl-hydroxy-zellulose, in Gegenwart von DMSO, Glycerol dispergiert werden, wobei die pharmazeutischen Wirkstoffe micellar bei den gewünschten Konzentrationen enthalten sind.

Man dispergiert z.B. durch Schütteln, Rühren der wäßrigen Phase oder durch Ultraschallbehandlung, welche die zuvor hergestellte homogene isotrope Mischung enthält. Die Bildung der micellaren Strukturen mit den eingeschlossenen Wirkstoffen, pH ≤ 7,0, 20°C, findet spontan, d.h. ohne große zusätzliche Energiezufuhr von außen und mit großer Geschwindigkeit statt. Die Konzentration an N-Tensid der Formel I und II und Einschlußverbindung kann erhöht werden, wenn die KMK um mindestens das Zehnfache überschritten wird in der wäßrigen Phase bei konstantem chemischen Potential und Temperatur.

Die KMK ist eine variable Größe für die Menge der Monomeren der N-Tenside, welche man in einem bestimmten Volumen Wasser unter Verwendung von pH-Schwankungen  $\leq 7,0$  lösen kann. Die KMK, die erfindungsgemäß nicht sehr abhängig ist von der Natur des Gegenions, welches nur die Form bestimmt, da weit oberhalb der KMK gearbeitet wird, kann durch elektrochemische Verfahren (Leitfähigkeit, Potentiometrie) durch Messung der Überführungsstellen im Zusammenhang mit den Gegenionen, der Oberflächenspannung, Dampfdruckerniedrigung, Gefrierpunkterniedrigung und osmotischer Druck, Messung der Dichte, des Brechungsindex, der elastischen und unelastischen Lichtstreuung (Diffusionskoeffizienten, Stokes' Radius) und der Viskosität, sowie durch Gelfiltration und Röntgenkleinwinkel-Streuungsmessungen bestimmt werden. Nanosekunden Fluoreszenz als auch die Messung der Fluoreszenzpolarisation lassen zusätzlich Bestimmungen der Lage der eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoffe durch die N-Tenside der Formel I und II zu, z.B. durch ZnEDTA oder Hg(CN)<sub>2</sub> als Quencher und Amphotericin B als Verstärker. Positronium-Vernichtungs-Messungen an diesen beschriebenen micellaren Lösungen mit den eingeschlossenen Wirkstoffen lassen ebenfalls Aussagen über die Menge (Konzentration) des eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoffes in Abhängigkeit von der Natur und Konzentration von  $y^-$  zu.

Wässrige Phasen mit einem pH-Wert  $> 7,0$  werden nach der Dispersion zentrifugiert. Die Neutralisation auf pH  $\leq 7,0$  ist notwendig, um eine Zerstörung des Hetrozyklus in Formel II als auch des Wirkstoffes und/oder der Micellen unter basischen Bedingungen zu verhindern. Physiologisch gängige und verträgliche Säuren sind z.B. verdünnte wässrige Mineralsäuren und Salzsäure, Schwefelsäure oder Phosphatsäure oder organische Säure, z.B. Niederalkansäuren wie Essigsäure oder Propionsäure. Meistens reagieren die wässrigen Phasen der kationischen N-Tenside der Formel I und II sauer bis neutral, können aber auch durch Sörensen-Puffer oder organische Inertpuffer, wie z.B. HEPES, MOPS oder MES auf pH-Werte zwischen 3 und 7,0 genau eingestellt werden.

#### 25 Herstellung der homogenen, micellaren Lösung in nichtwässrigen Phasen:

Die Auswahl der betreffenden Lösungsmittel ist von der Löslichkeit des betreffenden pharmazeutischen Wirkstoffes darin abhängig. Geeignete Lösungsmittel sind z.B. Methylenchlorid, Chloroform, Alkohole, z.B. Methanol, Ethanol und Propanol, Niederalkancarbonsäureester, (Essigsäure-Ethylester), Ether oder Mischungen dieser Lösungsmittel. Nach Herstellen der micellaren Lösung und Zugabe des pharmazeutischen Wirkstoffes, gelöst im organischen Lösungsmittel, wird das organische Lösungsmittel entweder durch die vorne erwähnten Verfahren a. - d. oder durch Abblasen mit Inertgas, z.B. Helium oder Stickstoff, entfernt.

#### 35 Beispiel 1:

Man löst 10 mg Hexadecylpyridinium-chlorid in 100 ml einer Wasser/Ethanol-Mischung (85:15; "w/w) bei 25°C unter Rühren und addiert 10 ml Glycerol. Der pH-Wert sollte um 6,5 sein, kann jedoch mit HCl auf diesen oder einen anderen pH-Wert ( $= 7,0$ ) eingestellt werden. Diese Lösung wird dann auf  $20 \pm 0,01^\circ\text{C}$  abgekühlt, anschließend ultraschall-behandelt (Bronson-Sonifier, Mass., U.S.A.) für zwei Minuten bei 10 Watt. Die Bildung der Micellen wird durch Messung des Diffusionskoeffizienten mittels inelastischer Lichtstreuung bestimmt und dann nach der Beziehung

$$(1) \quad D_{20, \text{w}}^0 = \frac{k_B \cdot T}{6 \pi \eta_O \cdot R_H} \quad \begin{aligned} T &= t^\circ + 273 \\ \eta_O &= \text{Viskosität des Lösungsmittels} \\ k_B &= \text{Boltzmann-Konstante} \\ D_{20, \text{w}}^0 &= \text{Diffusionskonstante} \end{aligned}$$

der Stokes, Radius ( $R_H$ ) berechnet. In Gegenwart von Cle als Ye sollte er nicht größer als 50 Å, von Bré nicht größer als 1000 Å sein. Zur Bildung von Mikroemulsionen von Micellen bestimmter Größe dispergiert man bei Raumtemperatur ( $20^\circ\text{C}$ ) einen filmartigen Rückstand, den man durch Eindampfen der oben genannten Lösung im Rotationsverdampfer erhält, in 1/10 des ursprünglichen Volumens durch 10-minütiges Schütteln. Man erhält eine leicht opalisierende, wässrige Lösung. Zum Einschluß eines pharmazeutischen Wirkstoffes, z.B. 5-Fluorurazil, Cytarabin oder Idoxuridin können, diese in Wasser schwerlöslichen Substanzen direkt, d. h. in fester Form oder als wässrige Suspension eingegeben werden. So gibt man z. B. Trifluoridin, 1.0 - 3.0 mg, bei  $20^\circ\text{C}$  unter Umrühren entweder als Mikroemulsion (Suspension) oder zur

wässrigen micellaren Lösung der quartären Ammoniumbase direkt zu. - Eine quantitative Dosierung dieser genannten Nukleosid-und Adeninnukleosid-Verbindungen kann auch durch Dialyse erreicht werden:

Die micellare Lösung der vorne genannten Konzentration (gepuffert, ungepuffert, pH ≈ 6,0, Ionenstärke variabel, T = 293°K) wird in ein Dialyseschlauch (Fa.Servant oder Pharmacia) gefüllt, verschlossen und unter stetem Rühren bei Raumtemperatur gegen eine eingestellte Lösung von pH ≤ 7,0 die das vorne genannte Pyridin-oder/und Adenin-Nukleosid bestimmter Konzentration enthält, für 2 Std.dialysiert. Die Abnahme der Extinktion bei 260 nm mit der Zeit der Dialyse erlaubt die Kontrolle des micellaren Einbaues der vorne genannten Wirkstoffe in den hydrophoben Kern des Hexadecylpyridiniumchlorides (Tab.1).

10

Tabelle 1: (20°C, pH 5,5)

	Experiment	R <sub>H</sub> (Å) (±5,0 Å)	Konzentration Trifluorouridine mg/100 ml	Idoxuridin mg/100 ml	Ausbeute (%)
20	1	45,0	5	7,5	95 95
	2	45,0	7,5	10,5	95 98
	3	50,5	10,0	12,5	94 98
25	4	60,0	12,0	15,0	96 98
	5	60,0	15,0	17,0	96 97
	6	65,0	17,0	20,0	96 96
30	7	71,5	20,0	21,5	100 98
	8	75,0	25,0	23,0	100 100
	9	75,0	30,0	24,0	100 100
35	10	78,0	50,0	30,0	100 100

Die erfolgte Bildung von kleinen micellaren Gebilden in der vorne genannten Lösung ist im NMR-Spektrum durch die Signale δ = 1,25 (Methylen), δ = 0,86 (Methyl) erkennbar. Durch Inkorporation der vorne genannten pharmazeutischen Wirkstoffe findet je nach Absättigung im hydrophoben Kern eine Verschiebung von δ = 1,25(Methylen) statt, jedoch nicht von δ = 0,86 (Methyl).

Die Größe der Micellen kann durch inelastische Lichtstreuung nach Formel (1) leicht bestimmt werden (Tabelle 1). Die Größe, einschließlich der Form und zur Erhaltung einer homogenen und monodispersen Lösung kann auch durch HPLC-Chromatographie, Gelpermeation-und Agarose-Chromatographie erreicht werden. (Abb. 7)

Eine Konzentration der so hergestellten Micellen kann durch Druckdialyse erreicht werden mittels Fiberglas-Patronen definierter Porengröße. So ist es möglich, nicht nur eine definierte Konzentration an pharmazeutischem Wirkstoff vorzunehmen, sonder auch die Micellengröße, Aggregationsrate, Hydratation (Solvatation) konstant zu halten, da keine Fusion der Micellen ("intermicellar growth") eintritt. D.h. die Zahl der Micellen pro Volumeneinheit mit ihrem eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoff nimmt zu (Konzentration hydrodynamischer Partikeln mit gleichem Molekulargewicht), nicht die Aggregationsrate, noch die Zahl der Eventuell vorliegenden Monomeren, die durch Ultrafiltration abgetrennt werden.

55



Beispiel 2:

- Analog Beispiel 1 löst man pro Versuch 15 mg Benzethoniumchlorid in 150 g Wasser/Ethanol (85/15; %/w) bei 25°C unter Rühren und addiert 0,5 ml Glycerin. Der pH-Wert ist normalerweise zwischen 4,8 und 5,5. Um eine klare, nicht opalisierende Lösung zu erhalten, wird diese Lösung bei 25°C für zwei Minuten bei 20 Watt ultraschallbehandelt. Die Bildung der Micellen definierter Größe ist nach Abkühlen auf 20°C nach fünf Minuten abgeschlossen. Zur Inkorporation der vorne genannten antiviralen Wirkstoffe, z.B. Trifluoruridin, Idoxuridin, kann wie unter Beispiel 1 verfahren werden.

- Zum Einschluß von Miconazol (Z-Form) dispergiert man die so hergestellte micellare Lösung in Gegenwart von Miconazol bestimmter Konzentration ultraschallbehandelt (2 Minuten), dann über Agarose chromatographiert, wobei die Micellen mit dem hydrophob eingeschlossenen Z-Miconazol als einheitlicher, monodisperser Peak eluiert werden kann. Die Größe und Konzentration an Wirkstoff kann durch inelastische Lichtstreuung und UV-spektroskopisch bestimmt werden. (Abb. 8)

- Analog zum Beispiel 1 kann man 10 mg Benzethoniumchlorid und eine gewünschte Konzentration Z-Miconazol in je 5 ml einer Chloroform Methanol-(3:1)-Mischung lösen, dann konzentrieren durch "hollow fiber pressure dialysis" und anschließend in Wasser oder gewünschtem Puffer dispergieren. Man erhält eine klare wässrige Lösung, welche an Micellen der Größenordnung von  $R_H = 60-80 \text{ \AA}$  in Gegenwart von Cl<sup>-</sup> oder  $R_H = 100-1000 \text{ \AA}$  in Gegenwart von Salizylat mit eingeschlossenem Wirkstoff besteht.

- Durch Zugabe von 1 % (%/g) Alginat und/oder 5 % (%/g) Dimethylsulfoxid können auch tixotrope Gele mit den vorne genannten eingeschlossenen Wirkstoffen hergestellt werden. Durch Erhöhung der Benzethoniumchlorid-Konzentration, einschließlich der eingeschlossenen Wirkstoffe, bis zu 2 % (%/g) können auch wirksame Öle hergestellt werden.

Beispiel 3:

Analog zu Beispiel 1 und 2 können die Gegenionen  $Y^- = \text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  etc. nach verfahrensgemäßer Herstellung durch Ionenaustauscher Chromatographie an DEAE-Sephadex A 50 oder DEAE-Sepharose oder durch umdialysieren gegen das betreffende bzw. gewünschte Gegenion  $Y^-$  ausgetauscht werden.

- a) eine nach Beispiel 1 und 2 hergestellte wässrige micellare Lösung wird auf pH = 7,0 mit 0,01 N NaOH gebracht (20°C). Dies kann entweder durch Titration oder Dialyse gegen 0,01 N NaOH über 10 Std. geschehen. Anschließend erfolgt eine Dialyse gegen 1N Fumarat oder Maleat-Lösung, wobei hier die Na-Salze der Fumar- bzw. Maleinsäure eingesetzt werden können. Die Dialyse ist nach 12 Std. beendet. Ein Verlust an antiviralen Wirkstoffen, die vorne genannt sind, tritt nicht auf.
- b) eine nach Beispiel 1 und 2 hergestellte wässrige micellare Lösung, pH 6,0, wird auf einer DEAE-Sephadex A 50 (1,0×100 cm)-Säule, die zuvor mit einer gepufferten (0,01 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Puffer) 0,1 N Salizylatlösung beladen wurde, mit einer Fließgeschwindigkeit von 10 ml/30 min eluiert (20°C). Das überschüssige Salizylat wird durch Dialyse gegen einen großen Überschuß Wasser/Ethanol/Glycerol (90/5/5; %/g) von dem Säuleneluat beseitigt. Die DEAE-Sephadex A 50 Chromatographie kann auch unter Druck im Gegenstromverfahren mit dem gleichen Lösungsmittelsystem durchgeführt werden. Es resultiert bei der Austauscher-Chromatographie (DEAE-Sephadex A 50, DEAE-Sepharose 2B, 5B, DEAE-Cellulose, hügelig) ein homogener Peak, der nach den Kriterien, die in Beispiel 1 und 2 aufgezeigt worden sind, analysiert werden können. DEAE-Sephadex und DEAE-Sepharose haben den Vorteil, daß erhebliche Mengen an micellaren quartären Ammoniumbasen sowohl gereinigt als auch auf mono-Dispersität geprüft werden können.

Beispiel 4:

- Analog zu Beispiel 1 wird eine micellare Lösung von Hexadecylpyridinium-chlorid mit folgenden pharmazeutischen Wirkstoffen hergestellt:

- 100 g Lösung enthalten:  
 Hexadecylpyridinium-chlorid 0,10 g  
 Atropin-Hydrochlorid (±) 0,002 g  
 55 Zink-II-chlorid 0,004 g

Glycerol 10,0 g  
 Ethanol 4,894 g  
 Wasser 85,0 g  
 pH 6,2

5 Diese Präparation hat einen hydrodynamischen Radius von  $35,0 \pm 5,0 \text{ \AA}$  und eine Aggregationsrate von  $N = 35$ , bei einem Molekulargewicht des Monomeren von Hexadecylpyridinium-chlorid von 393,0. Jede Micelle dieses Durchmessers enthält im Durchschnitt 100 µg Zink und/oder 50 µg Atropin (-).

Die Abbildung 9 zeigt die Varianz im hydrodynamischen Radius,  $R_H$ , dieser Präparation. Außerdem zeigt es die vorne beschriebene erfundungsgemäße Auf trennung des Racemats Atropin in die optische 10 Antipoden z.B. Hyocyamin (-). Die micellare Größenverteilung wird durch ZnII-chlorid nicht verändert.

Die Abbildung 10 zeigt die Varianz im hydrodynamischen Radius,  $R_H$ , der N-Hexadecyl-4-methyl-pyridinium-chlorid und N-Hexadecyl-4-methyl-pyridinium-chlorid + Atropin-HCL.

15 Beispiel 5:

Man löst 5 mg 4-(17-Tritriacontyl)-N-methyl-pyridinium-chlorid, 1-2,0 mg Amphotericin B in 10 ml einer Chloroform/Methanol-Mischung (2:1) unter Stickstoff bei 25°C auf und dampft diese Lösung im Rotationsverdampfer ein. Der filmartige Rückstand wird in 5 ml destilliertem Wasser fünf bis zehn Minuten geschüttelt. Diese Lösung wird anschließend für drei Minuten ultraschallbehandelt bis sie nicht mehr opaleszierend ist. Man kann diese, je nach Bedarf, anschließend durch Zugabe von 0,5 ml eines fünffachen Konzentrates von Phosphat-gepufferter, isotonischer Kochsalzlösung auf den pH-Wert von 5,5-6,5, bringen.

20 Diese so hergestellte Lösung wird in eine gerührte Ultrafiltrationszelle (z.B. Amicon<sup>®</sup>) eingefüllt, welche anstatt des Ultrafilters mit einem gerädporigen Filter mit einem Porendurchmesser von 0,05 µm versehen ist, in Abwesenheit von  $\text{Me}^{2+}$ -Ionen ( $\text{Me}^{2+} = \text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ ), so filtriert, daß das Volumen in der Zelle nicht unter 30 ml absinkt. Hierdurch werden Vesikel einheitlicher Größe von < 50.000 Å hergestellt.

25 Form, Größe und Molekulargewichtsverteilung können wie im Beispiel 1 und 2 ermittelt werden. Das Pyridinium-Amphiphile wird aus den entsprechenden Jodiden mit Silberchlorid in 10 % (v/v) Ethanol-Wasser hergestellt. Die farblosen Kristalle haben einen  $F_p = 64^\circ\text{C}$  (aus Aceton umkristallisiert) und kristallisieren 30 mit einem Molekül Wasser.

35  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{Me}_4\text{Si}$ ):  $\delta$  0,93, (6H,t,J~4Hz), 1,28 (60 H,m), 2,8 (1H,q,J<2Hz, nicht aufgelöst), 4,75 (3H,s), 7,7-9,5 (4H,m). Charakteristisch ist ein  $\text{H}_2\text{O}$ -abhängiges Signal bei  $\delta$  4,4.

Anal: Calc. für  $\text{C}_{39}\text{H}_{74}\text{NCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (MW 610,50) C, 76,72; H, 12,55; Cl, 5,81; gefunden: C 76,53, H, 12, 42; Cl, 5,78.

35

Beispiel 6:

Analog zu Beispiel 5 werden 10 mg 3,5-bis [(n-hexadecyloxy) carbonyl] -N-methyl-pyridiniumchlorid 40 ( $F_p = 102-102,5^\circ$ ) mit 2,0 mg Amantidin oder Rimantadin in 10 ml einer Ethanol/Wasser-Mischung (1:2) unter Stickstoff bei 20°C gelöst. Nach Ultraschallbehandlung (5 min, 20°C, 10 Watt) können die gebildeten Vesikel mit ihren eingeschlossenen Wirkstoffen Amantidin oder Rimantadin auf einer Sepharose 2B nach Größe und Molekulargewicht getrennt werden, um eine homodisperse Lösung von Vesikeln mit geringer Molekular-Polydispersität zu erhalten. Im  $^1\text{H-NMR}$ -spektrum sieht man die deutlichen Signale der Methylen (  $\delta = 1,28$  ) und Methyl-Protonen (  $\delta = 0,86$  ).

45 Diese in Beispiel 5 und 6 gebildeten unilamellaren Vesikeln können im Elektronenmikroskop sichtbar gemacht werden. Dazu wird die Vesikel-Dispersion zunächst der "freeze-fracture"-Methode unterzogen. Auch kann durch "negative staining" mittels der zwei Tropfen-Methode auf Formvar oder Kohlegrids durchgeführt werden. Durch diese beiden Techniken ist es zusätzlich möglich, eventuelle Populationen von 50 Vesikeln sichtbar zu machen.

Auch die unter Beispiel 1 und 2 angewandte Methode der inelastischen Lichtstreuung gestattet es, Form und Größe dieser Vesikel und ihrer eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoff zu bestimmen (Abb. 11).

55 3,5-Bis [(n-hexadecyloxy)carbonyl]-N-methylpyridiniumchlorid,  $F_p = 102,0-102,5^\circ$  (Aceton).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{Me}_4\text{Si}$ ):  $\delta$  0,85 (6H,t,J 5Hz), 1,30 (56H,m), 4,40(4H,t,J<7Hz), 5,03 (3H,s) 9,20(1H,t,J<2Hz), 10,00- (2H,d,J<2Hz).

Analyt. Calc.:  $\text{C}_{40}\text{H}_{72}\text{NO}_4\text{Cl}$ (MW 666,47):C72,10, H10,88, C15,32; gef. C 71,44, H 10,84, Cl 5,23.

Beispiel 7:

Man löst 3 ml Gentamycin analog zu Beispiel 1 und 2 oder in eines in der Tabelle 3 genannten Tensides der quartären Ammoniumbasen in 1 ml einer Chloroform/Methanol-Mischung (3:1) auf und dampft diese Lösung bis zu einem dünnen Film ein. Dieser wird dann in 10 ml Wasser dispergiert. Anschließend kann man die Lösung auf den gewünschten pH > 3 < 6,5 mit Puffer einstellen. Man erhält eine klare Lösung.

Diese klare Lösung enthält je nach Verwendung des Tensides gemäß Tabelle 3 eine monodisperse Verteilung von mit Gentamycin beladenen Micellen in der gewünschten Größenordnung und Ausbeute (Abb. 12).

Beispiel 8:

Eine micellare Lösung von Hexadecylpyridinium-chlorid (Cetylpyridinium) wird analog zu Beispiel 1 (20°C) bereitet und enthält die folgenden Wirkstoffe:

100 g Lösung enthalten:

Cetylpyridiniumchlorid	0,10 g
Atropin-Hydrochlorid (I)	0,004 g
Quecksilber II-cyanid	0,004 g
Glycerin	10,892 g
Ethanol	5,0 g
Wasser	84,0 g
pH, T = 293°K	5,7

Diese Präparation hat erfindungsgemäß einen hydrodynamischen Radius von  $35,0 \pm 10,0 \text{ \AA}$  und eine Aggregationszahl, n, von 35 bei einem Molekulargewicht des Monomeren von Cetylpyridiniumchlorid von 393,0. Jede Micelle von diesem Durchmesser enthält im Durchschnitt 5 µg Hg(CN)<sub>2</sub> und/oder ~ 5,0 µg Atropin (-) (Abb. 14).

Diese Präparation ist eine homogene Lösung, die Micellen der Größenordnung von 30-50 Å ( $R_h$ ) enthält. Sie inhibiert das Wachstum von Influenza A Virus wie die nachfolgende Tabelle 6 zeigt (Abb. 13).

Tabelle 6

	Inhibitor <sup>a)</sup>	Titration der Infektion <sup>b)</sup> , Plaque forming units	Inhibition <sup>c)</sup>
	1-Adamantanamin-HCl	$2 \times 10^5$	-1,11
	wässrige Hg(CN) <sub>2</sub> -Lösung	$1 \times 10^6$	-1,30
	Cetylpyridinium-chlorid	$1,5 \times 10^3$	-0,11
	Präparation nach Beispiel 8	$2 \times 10^5$	-1,45
	Kontrolle	$2 \times 10^8$	-

## Beispiel 8 - Blatt 2 -

a) Inhibitor-Konzentrationen werden in den in vitro Zellkulturen von 100 µM zugegeben.

b) Plaque-Assay wurde nach K. Tobita, A. Suginire, C. Enamote und M. Fusiyama, Med. Microbiol. Immunol., 162, 9 (1975) an Nierenepithelien (Hund,MDCK) in Gegenwart von Trypsin durchgeführt.



c) Die Inhibition ist angegeben als der negative dekadische Logarithmus des Quotienten der "Plaque forming units" in Gegenwart des Inhibitors zu der ohne Inhibitor:  $^{10}\log \frac{\text{pfu/ml des Inhibitors}}{\text{pfu/ml Kontrolle}}$ .

Die Abbildung 7 zeigt die Varianz im hydrodynamischen Radius,  $R_H$ , dieser Präparation. Außerdem 5 zeigt es die vorne erfindungsgemäß beschriebene Auf trennung des Atropins in seine optimale Antipoden in Gegenwart von  $\text{Hg}(\text{CN})_2$ .

#### Beispiel 9:

10 Man löst 5 mg einer in der Tabelle 3 (vornehmlich Nr. 1,2 oder 4) angegebenen N-quartären Ammoniumbase und 2,0 mg 5-Fluorurazil oder 1,5 mg 5-Fluorodesoxyuridin in 10 ml einer Chloroform/Methanol/Ether (Mischung (3/1/1) und dispergiert diese Mikro-Emulsion durch zweistündiges, heftiges Schütteln bei 25°C. Zur Weiterverarbeitung ergeben sich zwei Wege:

15 a) Die Suspension wird zu einem dünnen Film eingedampft (unter  $\text{N}_2$  und UV-Schutz). Der filmartige Rückstand wird dann in Wasser oder Puffer, z.B. 0,01 M bis 0,001 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  auf pH 4,5-6,5 eingestellt bzw. dispergiert. Anschließend trennt man die klare, micellare Lösung, nachdem man vorher zur Erhöhung der Ausbeute dieser z.T. opaleszierenden Lösung ultraschallbehandelt hat (10 Watt, 2 min), auf einer Bonderpak I-250 oder einer RP 18-Säule durch Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)-von eventuell 20 vorhandenen Monomeren und nicht eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoffen. Es wird in einer gerührten Ultrafiltrationszelle (Amicon<sup>B</sup>) mit einem Filter aus Polycarbonat mit einem Porendurchmesser von 0,015  $\mu\text{m}$  konzentriert.

25 b) In dieser Suspension werden bei 25°C 10 % (%/g) Dimethylsulfoxid (DMSO) und 2,5 % (%/g) Alginat eingerührt. Das gebildete Gel bildet sich spontan. Im Röntgenkleinwinkelgramm wird ein Einheitsabstand von  $d = 125 \text{ \AA}$  gefunden, der sehr verschieden ist von Alginatgelen ( $d = 25,45 \text{ \AA}$ ). Das Gel hat tixotrophe Eigenschaften und wird bei 45°C flüssig. Die Rückbildung des Gels erfolgt bei 42°C und erreicht nach 2 Std. seine konstanten rheologischen Parameter bei 20°C bzw. 37°C.

Die endgültigen Konzentrationen pro 100 g pharmazeutischer Zubereitung ergeben sich wie folgt:

a) 100 g Lösung enthalten:

30	$\text{N}^+-\text{Tensid}$ (Tabelle 3, Nr. 4)	0,01 g
	5-Fluorodesoxyuridin	0,10 g
	Glycerin	11,89 g
	Wasser	88,00 g
	T = 293°K, pH = 5,5	
35	b) $\text{N}^+-\text{Tensid}$ (Tabelle 3, Nr. 2)	0,05 g
	5-Fluorodesoxyuridin	0,05 g
	Dimethylsulfoxid	10,00 g
	Alginat	2,50 g
	Wasser	86,50 g
40	T = 293°K, pH = 5,5	

#### Beispiel 10:

45 Man löst 15 mg (0,02 mMol) Benzethoniumchlorid, 2 mg 2-Acetamido-4-morpholino-1,3,5-Triac in 30 ml einer Wasser/Ethanol-Mischung (80:20 oder 90:10) bei 20°C unter Ultraschallbehandlung in 0,01 M  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , pH 6,5 unter  $\text{N}_2$ -Strom auf. Man erhält eine opalisierende, wässrige Phase. Durch Abtrennen der "umgekehrten Micellen" (reversed micelle) von den Micellen in wässriger Phase auf einer Sepharose 2B-Säule (1,5×100 cm) erhält man eine einheitliche, monodisperse Micellen-Formation mit einem durchschnittlichen hydrodynamischen Radius von 50  $\text{\AA}$ . Die chromatographierte Lösung kann wie in Beispiel 9 durch eine Ultrafiltration konzentriert werden. Die Lösung wird stabilisiert durch Einsatz von 5 % (%/w) Glycerin oder durch Zusatz von 2 % (%/w) Salicylat. Diese so hergestellten Lösungen verändern ihren hydrodynamischen Radius, ihr partiell spezifisches Volumen und Molekulargewichtsverteilung im Temperaturbereich von 15-45°C nicht.

100 g Lösung enthalten:

Benzethoniumchlorid	0,15 g
2-Acetamido-4-morpholino-1,3,5-triazin	0,006 g
Salicylsäure	0,05 g
5 Glycerin	5,00 g
Wasser	94,894 g
T = 239°K, pH = 5,5	

10 Beispiel 11:

Man löst 30 mg (0,020 mMol) 3,5-bis[(n-Hexadecyloxy)carbonyl]-N-methyl-pyridiniumchlorid und 1,0 mg (~0,005 mMol) Polyoxin A in 10 ml 0,01 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 6,5, bei 20°C, das 1 ml einer Mischung von tert. Butanol/Methanol/Ethanol (2:1:1) enthält. Die Lösung wird ultraschallbehandelt (20 Watt, 5 min) im Eisbad bei 0°C und anschließend auf 20 ml mit Phosphatpuffer, pH 7,0, aufgefüllt. Die klare, nicht opaleszierende Lösung wird auf einer Sepharose 2B-Säule bei pH 7,0 in Gegenwart von Phosphat bei Raumtemperatur chromatographiert. Die mit dem pharmazeutischen Wirkstoff dotierten Vesikel werden in einer Ultrafiltrationszelle (Amicon<sup>R</sup>) mit einem Porendurchmesser von 0,05 μm unter geringem Überdruck konzentriert. Nach Durchtritt von 0,3-0,5 ml Filtrat sind alle Vesikel mit Durchmesser 350 Å abgetrennt und die 20 Überstehende Dispersion kann ampulliert und für Behandlungsversuche eingesetzt werden. Abb. 15 zeigt die Inhibierung der Chitinsynthetase bei Digitonin-behandelten Zellen (*Saccharomyces cerevisiae* und *Candida albicans*) nach Zusatz dieser Präparation in Abhängigkeit von der Polyoxin A-Konzentration Abb.16: Bild des "Freeze-Etch".

25

Beispiel 12:

Analog zu Beispiel 2 löst man 10 mg Hg(CN)<sub>2</sub> und 40 mg Na-Ascorbat bei pH 7,0 in 10 ml Phosphatpuffer auf. Die Suspension wird bei 0°C 5 min ultraschallbehandelt, langsam auf 20°C erwärmt und auf einen 10 %igen (%/w) linearen Glycerolgradienten in einer präparativen Ultrazentrifuge bei 1000×g über 6 Std. zentrifugiert (20°C, Polyolomer-Röhren). Nach dem Austropfen werden die UV-aktiven Frakturen zusammengefaßt in einer Amicon-Flowzelle konzentriert und anschließend auf Hg, Ascorbat analysiert (HPLC; Fließmittel CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (50/50) Hg-Detektion mit Na-diethylthiocarbamat, Hexadecyl-pyridinium-Cl, z.B. durch UV-Detektion bei 251 nm; N Ascorbat durch UV-Detektion bei R = 245 nm bei pH 2,0 und R = 35 265 nm bei pH 7,0). Diese micellar eingeschlossenen Hg(CN)<sub>2</sub>-Ascorbat Komplexe (MW≈1.500) haben gemäß Tabelle 5 folgende representativen Inhibitor-Konzentrationen gegenüber *B. subtilis* DNA-Polymerase III.

40

45

50

55

Tabelle 5

5	Nr.	Tensid	$Hg(Cl)_2$ $K_1, \mu M$	$Hg(Cl)_2$ Ascorbat $K_1, \mu M$	kompetitiv mit:
10	1	Hexadecyl-pyridinium-Cl <sup>9</sup>	7,9	15,3	dGTP
15	2	Hexadecyl-pyridinium-Cl <sup>9</sup>			dGTP
20	3	Benzethonium-Cl	33,1	12,0	dATP
25	4	Benzethonium-Cl			dATP
30	5	8-Keto-hexadecyl- pyridinium-Cl	0,4	0,05	dGTP
35	6	8-Keto-hexadecyl- pyridinium-Cl	2,5	7,5	dGTP
40	7	3,5-bis (n-hexadecyloxy- carbonyl -N-methyl- pyridinium-Cl	2,0	9,2	dGTP
45	8	4-(17-tritriacontyl)-N- methyl-pyridinium-Cl	4	10,1	dGTP
50	9	nach Tabelle 3 Nr. 9	9	0,5	dGTP
55	10	nach Tabelle 3 Nr. 10	0,1	7,9	dATP

Die Inhibitor-Konzentrationen sind in 50 % der vollständigen Inhibierung angegeben. Der Assay, der verwendet wurde ist der gemäß von Clements, J; D'Ambrosio, J; Brown, N.C.; J.Biol.Chem. (1975) 250, 522 und Wright, G.E.; Brown, N.C.; Biochem.Biophys. Acta (1976) 432, 37.

#### Pharmakodynamische Versuche :

Die Bedeutung hochreaktiver Sauerstoffmoleküle (Superoxidradikale  $O_2^-$ , Peroxide  $H_2O_2$ , Hydroxilradikale  $OH^-$ , Singuletsauerstoff  $^1O_2$ ) im entzündlichen Prozess ist bekannt (s. z.B. McCord, J.M., K. Wong: Phagocytosis-produced free radicales: roles in cytotoxicity and inflammation. In: Oxygen Free Radicals and Tissue Damage, Excerpter Medica, Amsterdam-Oxford-New York, 1979, 343-360; Allgemeine und spezielle Pharmakologie, Herg. W. Forth, D. Henschler, W. Rummel, Biowissenschaftlicher Verlag, 1983). Sie entstehen u.a. bei der Phagocytosen durch aktivierte Leukoxyten (Monozyten, Makrophagen, polymorphekernige, neutrophile Granulozyten) und können zur Abtötung körperfremder Zellen, wie Bakterien, Bazillen u.a. auch bei bestimmten Viren, wenn das Immunsystem und die für IgG bzw. dem Komplementanteil  $C_3$  spezifische Rezeptoren der Phagozyten funktionstüchtig sind, dienen. Die phagozytierenden Zellen selbst werden durch ein System, bestehend aus mehreren Enzymsystemen vor Schädigung durch diese besonders aktiven Formen des Sauerstoffs intrazellulär geschützt.

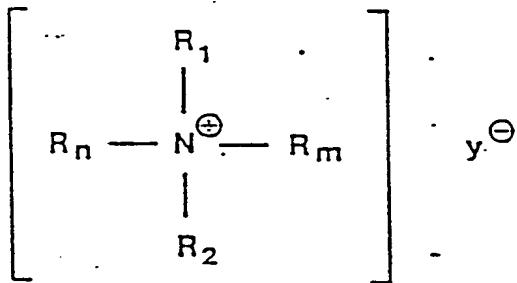
Es wurde nun gefunden, daß quartäre Ammoniumbasen der allgemeinen Formeln I und II



I.

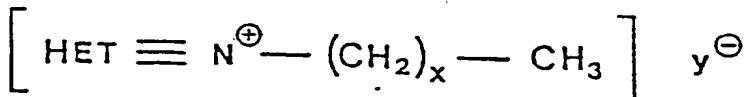
5

10



II.

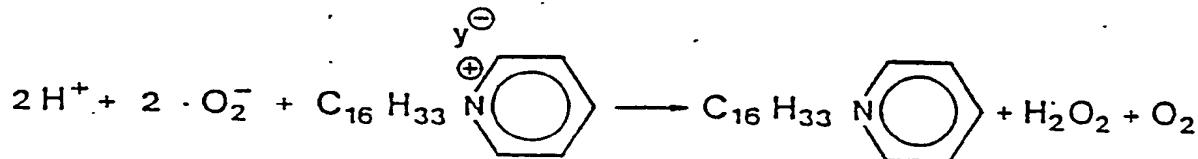
15



wobei  $y^-$  ein Gegenion sowohl anorganischer, z.B.  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $H_2PO_4^-$  oder organischer Natur, z.B. Fumarat, Malat, Salizylat, Acetat, Propionat, Gluconat und Alginat sein kann, der Heterocyclus sowohl ein Pyridin, Pyrimidin, Pyrazin, Imidazol, Thiazol oder Purin - aber ein  $\pi$ -Überschuß bzw.  $\pi$ -Mangel Aromatensystem - sein kann, alle in der Lage sind, bei  $pH \leq 7,0$  diese Sauerstoffradikale gemäß dem nachfolgenden Reaktionsmechanismus zu eliminieren:

25

30



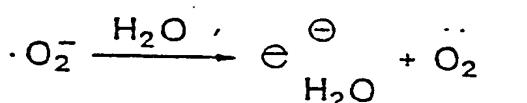
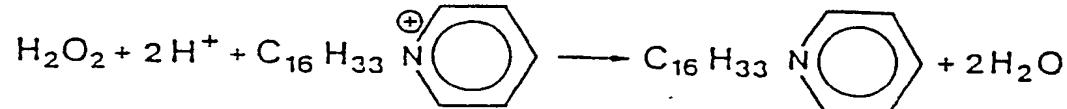
35

40

45

50

55



In allen Reaktionen, die im entzündlichen Gebiet zwischen pH 5,0 und 6,0 ablaufen, verlangen, was durch die verfahrensmässige Herstellung dieser Erfindung gewährleistet ist, einen pH-Bereich  $\leq$  7,0. Dadurch werden die gebildeten, aggressiven Sauerstoffradikale gemäß der Reaktion 1-4 durch das N-Tensid, z.B. Cetylpyridiniumchlorid, als auch die entstehenden hydratisierten, kurzlebigen Elektronen, die durch Zusammenstoß  $\cdot\text{O}_2^-$ -Radikale mit H<sub>2</sub>O entstehen können, abgefangen. Dadurch haben die N-Tenside in dem pH-Bereich  $\leq$  7,0 erfindungsgemäß eine membranprotektive Wirkung, so daß es nicht zu Entzündungsreaktionen gemäß eines Prostaglandinmechanismus kommen kann. Die hohe Einfangrate  $\cdot\text{O}_2^-$ -Radikale bei diesen N-Tensiden von  $k = 5 \times 10^{12} \text{N}^{-1} \text{ sec}^{-1}$  und ihrer Abhängigkeit von der Ionenstärke, die allerdings durch Zusatz von Ethanol/Glycerol konstant gehalten werden kann, wird durch die elektrostatische Doppelschichtstruktur der quartären Ammoniumbasen erklärbar.

So werden erfindungsgemäß fehlgeleitete lytische Reaktionen, an denen aggressive Sauerstoffradikale beteiligt sind, als pathogene Mechanismen der entzündlichen Erkrankungen, hervorgerufen durch Mikroorganismen und Viren, verhindert. So werden auch u.a. die cytotoxische Wirkung der Folgeprodukte dieser aggressiven  $\cdot\text{O}_2^-$ -Radikale durch die erfindungsgemäßen N-Tenside, wie am Beispiel von Cetylpyridiniumhalogenid gezeigt, verhindert und u.a. Depolymerisationen von Hyaluronsäuren, Proteoglykanen, Collagenfibrillen, Cytoskeletten usw. und auch bei Mukösen und membranösen Geweben (äußere Oberflächen) verhindert.

Weiterhin wurde gemäß der beschriebenen verfahrensmässigen Herstellung gefunden, daß Verbindungen der Struktur I und II die Infektion von menschlichen Zellen *in vitro* vermindert wird, so daß die erfindungsgemäß hergestellten micellaren Lösungen von I und II einen Schutz für die Zellen bzw. deren externer Oberfläche darstellen.

Es wurde weiter gefunden, daß dieser Schutz durch Inkorporation von Hg(CN)<sub>2</sub>, ZnEDTA und/oder antiviralen, antifungalen und antibakteriellen Wirkstoffen verstärkt wird:

Es wurde gefunden, daß bei Inkubation von mit Influenzavirus, Untergruppe A<sub>2</sub>, infizierte Monolayer-Zellkulturen von Vero-Zellen als auch bei Herpes simplex-Virus HSV III *in vitro* mehr als 60 % der Zellen vor der Infektion durch das betreffende Virus geschützt werden.

Es wurde weiter gefunden, daß der Effekt der Protektion durch die N<sup>+</sup>-Tenside gemäß der allgemeinen Formel I und II für Mono-layer Zellfunktionen *in vitro* durch die antiviralen Wirkstoffe nicht verstärkt wird, wohl aber werden die Hemmkonzentrationen der antiviralen Wirkstoffe von Cytarabin, Idoxuridin, Trifluorothyminidin als auch Herpes simplex Virus Typ 1 oder Influenza Virus Typus A<sub>2</sub> infizierte Monolayer-Zellen um 30 % gesenkt gegenüber Applikationen, die keine quartäre Ammoniumbasen gemäß Formel I und II enthielten. Die Kombination von N<sup>+</sup>-Tensid gemäß der allgemeinen Formel I und II erwies sich somit als das wirksame Virustatikum in Kombination mit micellar gebundenen antiviralen Wirkstoffen (Abb. 4).

Es wurde weiter gefunden, daß die N<sup>+</sup>-Tenside gemäß der allgemeinen Formel I und II die antifungale Wirkung in Kombination mit antifungalen Wirkstoffen wie Econazol, Clotrimazol, Miconazol verstärkt (~35 %), da die N<sup>+</sup>-Base bei geeignetem Gegenion in der Lage ist, Cholesterin aus der externen Membran des Pilzes oder Hyphen unter Bildung von gemischten Micellen ("mixed micelles") zu extrahieren und dann die antifungale Wirkstoffe, die wieder gebunden sind, in das Zellinnere des Fungus injizieren kann.

Es wurde weiter gefunden, daß die antifungale Wirkung durch Amphotericin B und eines N-Tensides der Formel II, vorzugsweise Hexadecylpyridinium-bromid, Decyl-und Hexadecyl-1-pyridinium-chlorid oder Hexadecyl-4-hydroxy-pyridinium-chlorid durch einen bislang nicht bekannten Mechanismus um das zehnfache verstärkt wird. Dies beinhaltet erfindungsgemäß, daß eine wesentlich geringere Wirkstoffkonzentration des pharmazeutischen Wirkstoffes ausreicht, um die gleichen therapeutischen Effekte zu erreichen.

Es wurde u.a. gefunden, daß die fungistatische Wirkung durch micellaren Einbau von ZnEDTA und ZnO, insbesondere auch durch Hg(CN)<sub>2</sub> in die N-Tenside der Formel I und II, insbesondere bei Hexadecylpyridiniumchlorid und Hexadecyl-4-hydroxy-pyridiniumbromid verstärkt wird, insbesondere bei Konzentrationen der anorganischen Wirkstoffe, wo sie selber noch nicht wirksam sind.

Es wurde gefunden, daß erfindungsgemäß die Micellen der N-Tenside in wässriger Phase bei pH  $\leq$  7,0 therapeutische Mengen von Benzoylperoxid, das schlecht wasserlöslich und alkohollöslich ist, micellar binden können. So können z.B. 1 g Benzoylperoxid in 20 ml Benzethoniumchlorid oder in 25 ml Hexadecylpyridiniumchlorid, insbesondere aber in 3-Hexadecylbenzothiazonium-bromid gelöst werden. Bei örtlicher Anwendung löst die micellare Lösung ähnliche Schäleffekte an der Haut aus wie Tretinoin. Aufgrund seiner zusätzlichen sehr guten bakteriostatischen Eigenschaften, sowohl des Benzoylperoxides als auch des N-Tensides, ist erfindungsgemäß diese Kombination bei entzündlichen Akneformen besonders geeignet, z.B. bei Acne comedonica, Acne papulo-pustulosa und Acne conglobata.

Es wurde gefunden, daß die erfundungsgemäß hergestellten Micellen in wässriger Phase der N-Tenside, in denen  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  oder  $\text{ZnO}$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{ZnEDTA}$  micellar eingeschlossen ist, in der Zellkultur irreversibel und viruspezifisch die Vermehrung von Herpes simplex Viren infolge Hemmung der viralen DNS-Polymerase, hemmen. Die nichtinfizierten Zellen bleiben weitgehend unbeeinflußt, so daß die in dieser Erfindung beschriebenen Verfahren, z.B. für Hexadecyl-pyridiniumchlorid, 3-Hexadecylbenzothiazolium-bromid (Sulfat) einschließlich der vorne genannten anorganischen Wirkstoffe, zu einem risikolosen Therapeutikum führt. Die adstringierenden Eigenschaften von  $\text{Hg}(\text{CN})_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{ZnEDTA}$ , spielen keine Rolle, da im hydrophoben Core der Micellen keine freien Ionen vorliegen, a) da z.B.  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  (richtiger  $\text{Hg}_2(\text{CN})_4$ ) undissoziert ist, b) die anorganischen Wirkstoffe durch ihre Lipophilie eingeschlossen sind und c) fast kein Wasser im hydrophoben Kern vorliegt.

Der kombinierte Effekt, die Bildung von gemischten Micellen ("mixed micelles") der N-Tenside gemäß der allgemeinen Formel I und II mit der durch den Virus befallenen Membran und der Phospholipid-Doppelmembran des Virus selber und die anschließende antivirale Wirkung auf die Virus DNS-Polymerase durch die vorne genannten anorganischen und organischen Wirkstoffe wie der Nukleosid analoge, 5-Ethyl-15 2'-desoxy-uridin und Viderabin, konnte gemäß Abb. 4a, b nachgewiesen werden.

Dieser Mechanismus konnte auch bei Rhino- und Influenza-Viren nachgewiesen werden. Ähnliche Wirkungen, jedoch bei geringeren Wirkstoffkonzentrationen wurden für 1,1':3,3'-Biscyclobutan und für 1,1':3,3'Amin substituierte Kubane gefunden.

Es wurde gefunden, daß die verstärkte antivirale Wirkung bei Phospholipid-Viren, Adeno-Viren und 20 Herpes simplex I durch das N-Tensid und die micellar eingeschlossenen Wirkstoffe gemäß folgenden biochemischen Mechanismen ihre Wirkung synergistisch entfalten:

- a) Bindung an DNS, RNS-bildende Enzymsysteme, Entfaltung der Polypeptidkette durch das N-Tensid (Denaturierung) verstärkte.
- b) "template"-Bindung, z.B. Daunomycin, Adriamycin
- c) Binding an Nucleosidanaloga, z.B. das vorne erwähnte ara-CTP-C5'-triphosphat das Cytosin-arabinosids, Azathioprin;
- d) Bindung von anorganischen Wirkstoffen, z.B.  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Hg}(\text{CN})_2$ , Wolframsäure-antimonate, z.B.  $(\text{NH}_4)_{18}(\text{NaW}_2\text{Sb}_9\text{O}_{45})_{17}$  und  $\text{K}_{18}(\text{KW}_2\text{Sb}_9\text{O}_{45})_{17}$ , sowie Hg-substituierte Kubane des vorne genannten Typus.

Im Zusammenhang mit der antiviralen Wirkung der micellar eingeschlossenen antiviralen Wirkstoffe 30 gemäß der verfahrensgemäßen Bearbeitung ist eine Reduktion der  $\text{ED}_{50}$  um 20-25 % in vitro gegenüber dem reinen Wirkstoff zu verzeichnen, so daß die gleiche molekularbiologische Wirkung bei einer ca. 20 %igen Dosis durch den micellaren Effekt zu erzielen ist. Dies gilt insbesondere für micellar eingeschlossenes Rubaricin in Hexadecyl-pyridinium-Bromid, Hexadecyl-benzothiazolium-chlorid und Benzethonium-chlorid. DNA-Viren, Herpes-Viren sind bei diesen Beispielen am sensitivsten im Gegensatz 35 zu Rimantadin + N-Tenside der Formel I und II, welche primär in vitro gegen RNA-Viren wirksam sind.

Es wurde weiter gefunden, daß die Antitumoraktivität von Adenosin-Desaminase Inhibitoren, die micellar gemäß Formel I und II verfahrensgemäß gelöst sind, z.B. Erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)-Adenin, Deoxycoformycin, um das Zehnfache verstärkt wird. Das gleiche konnte auch für Aspartat-Transcarbamylase Inhibitoren festgestellt werden; so wurde durch micellar eingeschlossenes N-(phosphono-acetyl)-aspartat die 40 Biosynthese von Pyrimidin durch Blockierung der Karbamylierung von Aspartat um das 20-fache verstärkt.

Außerdem wurde gefunden, daß sowohl micellar eingeschlossenes  $\text{Hg}(\text{CN})_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{ZnO}$  oder  $\text{ZnEDTA}$ , wie auch 5-trifluor-methyl-2'-Desoxyuridin, welches aus Trifluor-methyl-Urazil in vitro entsteht, die Thymidin-Synthetase - ein Schlüsselenzym der DNS-Synthese - irreversibel hemmt.

Die Pyrimidin-Biosynthese wird durch Pyrazofurin, einem natürlich vorkommenden Antibiotikum, welches micellar eingeschlossen ist, um 20 % irreversibel gehemmt, bei gleichzeitiger Reduzierung der 45 Zelltoxizität.

Es wurde weiterhin gefunden, daß die Diffusionsbarriere für Antibiotika, z.B. Tetrazyklinen, Aminoglykosiden auch für  $\beta$ -Lactamantibiotika (Penicillin) nach einer gewissen Zeit bei *E. coli* Bakterien für die micellar eingeschlossenen Wirkstoffe herabgesetzt werden. Diese Diffusionsbarriere ist konzentrationsabhängig für 50 die vorne genannten Wirkstoffe, jedoch nicht für die verfahrensgemäß hergestellten N-Tenside. Hier handelt es sich um Faltungsprozesse an der äusseren Membran, primär um die Änderung der Struktur der Porine innerhalb der äusseren Membran von *E. coli*, so daß z.B. die anorganischen Wirkstoffe  $\text{Hg}(\text{CN})_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{ZnEDTA}$  in das Periplasma der äusseren Zellmembranen von grammnegativen Bakterien hinein diffundieren können.

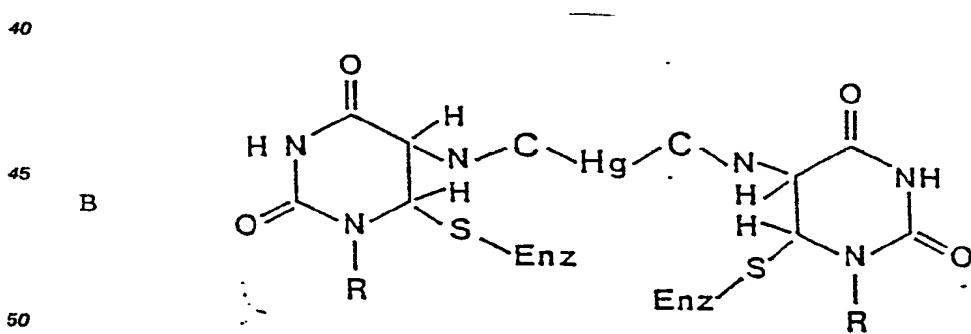
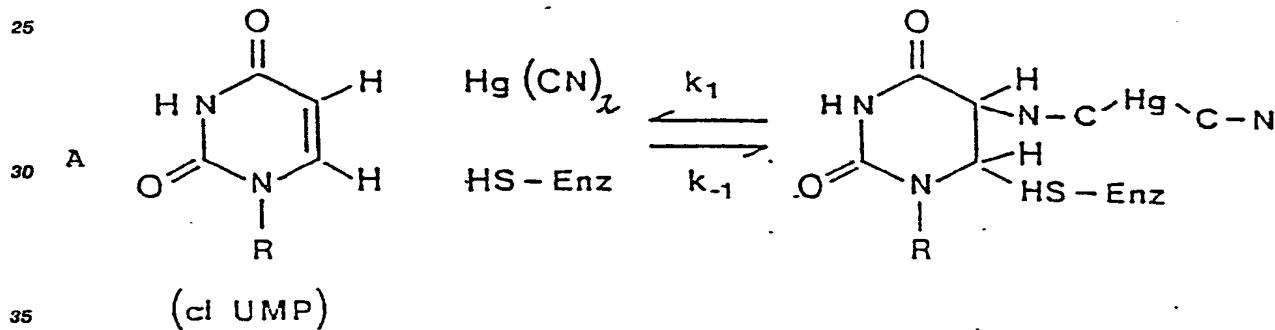
55 Die Porine sind membranöse, wassergefüllte Poren, durch die hydrophile pharmazeutische Wirkstoffe in das Innere der Zelle diffundieren können. Hydrophobe pharmazeutische Wirkstoffe können diese Porine nicht passieren. Die  $\text{N}^+$ -Tenside, insbesondere der allgemeinen Formel  $\text{HET}=\text{N}-(\text{CH}_2)_x-\text{CH}_3\text{y}\ominus$  als auch Benzethoniumabkömmlinge können diese wassergefüllten Poren passieren. Somit können micellar einge-

schlossene pharmazeutische, hydrophobe (lipophile) Wirkstoffe, insbesondere anorganischer Natur, durch den hydrophilen, äußere Form der N<sup>+</sup>-Tenside durch passive Diffusion ins Zellinnere gelangen.

Hier reagieren sie dann außerdem mit den Zellwand-synthetisierenden Enzymen, insbesondere mit Hg(CN)<sub>2</sub> bei Konzentrationen von 10 µg/ml, ZnEDTA bei c = 5 µg/ml.

- 5 Die Geschwindigkeit der Diffusion von micellar eingeschlossenen Wirkstoffen steigt mit steigendem hydrophoben Charakter, normalerweise ist dies genau umgekehrt, z.B. sinkt die Diffusionsgeschwindigkeit bei gramnegativen Bakterien mit steigendem hydrophoben Charakter. Weiterhin begünstigt eine positive Ladung die Diffusion und die Ausbildung von "mixed micelles" von diesen erfindungsgemäß herzustellenden N-Tensiden.
- 10 Die Gültigkeit dieser Befunde konnte durch Untersuchungen der Diffusions- und Auflösungsgeschwindigkeiten verschiedener radioaktiv (<sup>35</sup>C) markierter N-Tenside an der Membran (Periplasma) konzentrationsabhängig nachgewiesen werden.

Es wurde außerdem in vitro gefunden, daß die Thymidilat-Synthetase (TS) (EC2.1.1.45) sowohl durch Hg(CN)<sub>2</sub> in wässriger Lösung als auch in micellarer Lösung eines N-Tensides der Formel I und II, in dem 15 Hg(CN)<sub>2</sub> hydrophob gelöst ist, gehemmt wird. TS katalysiert die Umwandlung von dUMP und CH<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-Folat zu dTMP und H<sub>2</sub>-Folat. Da dieses Enzym für die Synthese von dTMP essentiell ist, also für die DNS-Synthese schlechthin, stellt es somit auch ein Target für pharmazeutische Wirkstoffe gegen neoplastische Zellen dar. Es wurde nun gefunden, daß z.B. eine erfindungsgemäß hergestellte Lösung von Hexadecylpyridinium-chlorid, das Hg(CN)<sub>2</sub> hydrophob gebunden hält, gemäß der Tabelle 1 aufgeföhrten 20 zytostatischen Aktivitäten gegenüber Leukämiezellen(L1210 -Zellen) hat. So konnte u.a. gefunden werden, daß TS, dUMP und Hg(CN)<sub>2</sub> als anorganischer pharmazeutischer Wirkstoff einen ternären Komplex gemäß - (A,B)



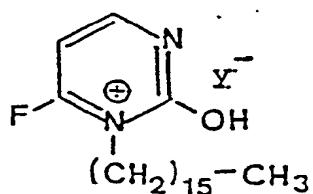
bilden, der durch Säulenchromatographie auf Sephadex G-25 und Bio-Gel P10 isoliert werden kann. Die Bildung des Komplexes gemäß Gleichung A hat eine Bildungskonstante von  $k_1 = 0,51 \text{ h}^{-1}$ , im Falle von Hexadecylpyridiniumchlorid, und  $k_1 = 0,79 \text{ h}^{-1}$  bei Benzethoniumchlorid und micellar eingeschlossenem 55 Hg(CN)<sub>2</sub>. Die Dissoziationskonstanten belaufen sich auf  $k_{-1} = 0,015 \text{ h}^{-1}$  (CPCl) und  $k_{-1} = 0,02 \text{ h}^{-1}$ , also beide sehr langsam, sowohl die Bildung als auch die Dissoziation des Komplexes. Dagegen ist die Bildung des Dimeren nach B wesentlich schneller:  $k_1 = 0,02 \text{ h}^{-1}$  und  $k_1 = 0,015 \text{ h}^{-1}$  bei CPCl und  $k_1 = 0,01 \text{ h}^{-1}$  für Benzethoniumchlorid. D.h., daß micellare Lösungen von quartären Ammoniumbasen gemäß Formel I

und II bei pH ≤ 7,0, welche Hg(CN)<sub>2</sub> hydrophob gebunden halten, sind daher therapeutisch bei langsam wachsenden Tumoren, wo andere Inhibitoren bei TS unwirksam sind und die beobachtete Cytotoxizität gegenüber den normalen Zellen von anderen Antimetaboliten bei schnell wachsenden, proliferierenden Zellen kann daher verlangsamt werden.

5      Ribavirin, welches ein synthetisches 1,2,4-Triazolnukleosid ist, besitzt ein breites antivirales Spektrum für DNA- und RNA-Viren. Micellar eingeschlossenes Ribavirin durch kationische Tenside der Form (Het=N<sup>+</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-CH<sub>3</sub>)Y<sup>-</sup> sehr schnell die Membranbarriere passiert, schneller als der pharmazeutische Wirkstoff selber. Auch die Umwandlung von Ribavirin zu Monophosphaten, Diphosphaten und Triphosphaten durch die spezifischen zellulären Enzyme wird gesteigert, so daß die Hemmung der virusinduzierten Enzyme, welche notwendig sind für die virale Nukleinsäurebiosynthese, beschleunigt wird. Während Ribavirin alleine nur einen moderaten Effekt auf die zelluläre DNA-Synthese hat und zytotoxisch im Bereich von 200-1000 µg/ml bei normalen Zelllinien ist, sinkt die Zytotoxizität in Gegenwart von kationischen Micellen, wenn micellar eingeschlossen, auf 50 µg/ml (in vitro-Teste), gemessen gegen Herpes simplex (DNA-Virus) infizierten Zellen.

10     15    Amantadin (1-Adamantanamin-HCl) besitzt besondere pharmakodynamische Wirkung gegen Influenza-Viren (Klasse A). Die Replikation der meisten Influenza-A-Stämme werden in vitro zwischen 0,2 - 0,6 µg/ml gehemmt. Micellar eingeschlossenes Amantadin in kationische Micellen, insbesondere der Form (Het=N-(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>-CH<sub>3</sub>)Y<sup>-</sup> bewirken eine Reduzierung der Konzentration an pharmazeutischem Wirkstoff auf 0,05 µg/ml Amantadin gemessen nach Hayden et. al., (Plaque inhibition assay for drug susceptibility resting of influenza viruses. Antimicrob. Ag. Chemoth. 1980, 17 : 865-70; Grunert et al.; Sensitivity of influenza A/New Jersey 18/76(Hsw1-N1)-virus to amantadine HCl, J. Inf. Dis. 1977, 136, 297-300). Während Amantadin gegen Influenza-Virus Typ B fast keine Aktivität besitzt, besteht eine Hemmung von micellar eingeschlossenem Amantadin in den kationischen Tensiden der Formel

25

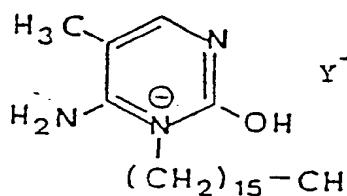


$\text{Y}^-$  = Fumarsäure-rest

30

(2-Hydroxy-5-Fluor-Hexadecylpyrimidinium-fumarat)

40



$\text{Y}^-$  = Fumarsäure-rest

45

50

(2-Hydroxy, 5-methyl-6-amino-hexadecylpyrimidinium-fumarat)

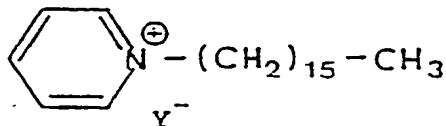
Bei einer Konzentration von 0,01 Gew.% von Amantadin bei Influenza-Virus Typ B entsprechend einer Konzentration von 0,5 µg/ml pharmazeutischen Wirkstoff in vitro.

Ein überraschender Effekt von micellar eingeschlossenem Amantadin in den beiden kationischen Tensiden der obigen Formeln wurde gefunden, das Influenza-Virus Typ A gegen Amantadin in vitro nicht resistent wird, während es bei Amantadin allein der Fall ist.

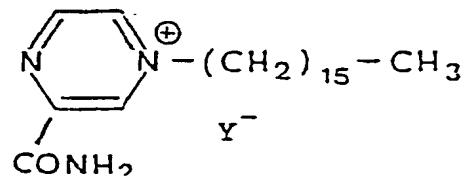
Rimantadin-HCl ( $\alpha$ -Methyl-1-adamantanmethyamin-hydrochlorid) hat die gleichen pharmakodynamischen Wirkungen in vitro wie Amantadin, jedoch ist stärker wirksam bei gleicher Dosis. Auch hier wurde überraschenderweise gefunden, daß micellar eingeschlossenes Rimantadin in ein kationische Tensid, insbesondere bei beiden obigen Formeln, der gleiche in vitro-Effekt gefunden wurde, wie beim reinen pharmazeutischen Wirkstoff, allerdings bei einer wesentlich geringeren Dosis von 0,05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Unter den anorganischen pharmazeutischen Wirkstoffen enfaltet  $\text{Hg}(\text{CN})_4$  und micellar gebundenes  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  in kationischen Micellen ein überraschendes antivirales, interferoninduziertes Spektrum. In Zellkulturen von Lymphozyten und Fibroblasten konnte eine Induktion von Interferon  $\alpha_1$  und Interferon  $\beta$  nach Inkubation mit micellar eingeschlossenen  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  in einem kationischen Tensid der Formel

10



20  $\text{Y}^- = \text{Chlorid}$



$\text{Y}^- = \text{Salizylat}$

Hexadecylpyridiniumchlorid

2-Carboxamid-hexadecyl-pyrazinium-salizylat

25

bei einer Konzentration von  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  von 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  bis zu 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$  von einer 0,1 % (%/g) kationischen Tensides festgestellt werden. Es wurde im Falle von Interferon  $\alpha_1$  Konzentrationen von 20-50 Units/ml ermittelt, im Falle von Interferon  $\beta$  10-20 Units/ml. Durch den micellaren Einbau des Quecksilbercyanids ist die Freisetzung des Interferon  $\alpha_1$  insbesondere aber durch das Interferon  $\beta$  bei Fibroblastenkulturen um das 30 10 bis 100-fache gegenüber einfachen wässrigen, gepufferten Lösungen von Quecksilber II-canid gesteigert.

### Sekundäreffekte

35

Die beobachteten Nebenwirkungen von Interferon  $\alpha_1$ , wie z.B. Kopfschmerzen, Lymphozytopenie, leichtes bis mittelschweres Krankheitsbefinden liegen bei den hier beschriebenen pharmazeutischen Zubereitungen, insbesondere gegen Influenza- und Rhinoviren, nicht vor bzw. wurden nicht beobachtet. Dies liegt vornehmlich daran, daß wesentlich geringere Einheiten/ml des Interferon  $\alpha$ , induziert durch den anorganischen pharmazeutischen Wirkstoff, therapeutisch zur Anwendung kommen als bei einer Therapie mit Interferon  $\alpha$  alleine. So wurden auch keine toxischen Effekte, z.B. gastrointestinale Störungen, Gewichtsverlust, Alopecia, periphere Krämpfe, Paraesthesiae und Knochenmarksdepressionen beobachtet, welche allerdings reversibel sind.

40 Die hämatologische Toxizität, welche im Falle von Interferon  $\alpha_1$  dosisabhängig ist (Thersholt-dosis  $3 \times 10^6$  Units/ml), liegt bei diesen pharmazeutischen Zubereitungen für Quecksilbercyanid, Rimantadin, Amantadin und Ribavirin nicht vor.

45 b) Die pharmazeutische Zubereitung, bestehend z.B. aus Hexadecylpyridiniumchlorid oder einem Pyrimidiniumderivat und einem Hexadecylrest in Gegenwart von micellar eingeschlossenem Quecksilbercyanid bewirken in der Zellkultur eine Interferonproduktion. Es handelt sich hier um eine Interferoninduktion durch freigesetztes Quecksilbercyanid, das örtlich in hohen Konzentrationen vorkommt und mit einem relativ hohen Molekulargewicht von 4500 durch Ausbildung von polymeren Strukturen. (Paradies, Oligomere Struktur von Quecksilbercyanid in Lösung, Vortrag Deutsch-Österreichische Chemische Gesellschaft, Innsbruck, Mai (1986.) Somit gehört diese pharmazeutische Zubereitung zu den Stoffen definierter Interferoninduktoren von hohem Molekulargewicht wie z.B. synthetische doppelsträngige RNA:PolyI:PolyC als auch niedrigem Molekulargewicht wie z.B. 10-Carboxymethyl-9-acridanon. Trotz dieser Heterogenität der Interferonwirkung ist es antiviral wirksam. Diese Wirkung diente zum biologischen Nachweis dieser pharmazeutischen Zubereitung. Es kann gesagt werden, daß die Interferonbehandlung von Zellen in Zellkultur derart verändert werden, daß eine nachfolgende Virusreplikation in diesen Zellen gehemmt wird. Dadurch unter-



scheiden sich Interferone in ihrem Wirkungsmechanismus grundsätzlich von Virustatika, die den Stoffwechsel der Viren selbst hemmen. Da Interferone auf die Zellen wirken, ist es nicht verwunderlich, daß sie auch andere Wirkungen auf die Zellen ausüben können. Dies gilt nicht nur für Zellkulturen sondern hat auch Auswirkungen für den Gesamtorganismus. Es ist bekannt aus vielfältigen Untersuchungen, daß Interferon 5 eine Vielzahl von Viren in ihrer Vermehrung hemmt. Das Ausmaß der Hemmung ist abhängig vom jeweiligen Virussystem. Somit scheint die Vermehrung fast aller Viren durch Interferon-Behandlung der Zelle hemmbar zu sein. Es gibt offensichtlich verschiedene Mechanismen, mittels deren Interferone wirksam sein können. So wird z.B. die Vermehrung von Retroviren auf die Bildung des "budding" d.h. des Ausschleusens neu gebildeter Virionen beeinflußt. Ein ähnlicher Mechanismus scheint auch für die 10 pharmazeutische Zubereitung mit micellar eingeschlossenem  $Hg(CN)_2$  zuzutreffen. So wurde im Rahmen der Erfindung beim Herpes simplex-Virus (HSV 1-3) durch die pharmazeutische Zubereitung bestehend aus Cetylpyridiniumchlorid und Quecksilbercyanid (s. Beispiel) induziertes Interferon auf die Synthese früh viral-kodierter Proteine des HSV die sogenannten  $\beta$ -Proteine nachgewiesen. Beim SV40-Virus scheint Interferon ebenfalls auf einen sehr frühen Schritt der Vermehrung zu wirken, der noch vor der primären Transkription 15 liegt.

Die erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitung, speziell micellar eingeschlossenes Quecksilbercyanid in 7-Hexadecylimidazolium-2,6-diamino-[4,5-d]-pyrimidin-chlorid ließen die Interferon bedingte Hemmung bei verschiedenen lytischen RNA-Viren beobachten. Die Inhibition erfolgt auf der Ebene der Regulation der viralen Proteine. Sie wird hervorgerufen durch Induktion bestimmter zellulärer Enzyme. Bei 20 näherer Untersuchung wurde gefunden, daß die Enzyme der 2',5'-Oligo--adenylat-Synthetase, der 2,5-A-abhängigen Endoribonuklease und die dsRNA-abhängige Proteinkinase hemmen. Für die beiden ersten konnte durch Korrelationsstudien und durch Charakterisierung von Zellmutanten eine Rolle in der antiviralen Aktivität gegen lytische RNS-Viren durch micellar gebundenes  $Hg(CN)_2$  nachgewiesen werden.

In diesen experimentell nachgewiesenen Effekten konnte auch ein antiproliferativer Effekt dieser 25 pharmazeutischen Zubereitung auf die Interferone in vielfältiger Weise auf die Membranen und das Zytoskelett von Zellen nachgewiesen werden. So beeinflussen sie weiterhin die Expressionen einer Reihe wichtiger Gene, z.B. die der Haupthistokompatibilitätslokus, die sogenannten Transplantationsantigene. Somit zeichnen sich auch immunregulatorische Wirkungen ab (Interleukin-1-Synthese). Dadurch ergeben sich therapeutisch und pharmakodynamisch folgende Aspekte: Die Induzierung der Interferone durch diese 30 pharmazeutische Zubereitung führt zu verstärkter Expression der Zelloberflächenproteine, die die wichtigste Rolle bei der Immunantwort spielen. Es sind dies die sogenannten Transplantationsantigene. Weiter ist anzuführen, daß mindestens zwei zelluläre Komponenten der körpereigenen Abwehr aktiviert werden, nämlich die Makrophagen und die natürlichen Killerzellen. Außerdem, was vor allem das Interferon  $\gamma$  betrifft, scheinen auch die Funktionen vom B-Lymphozyten maßgeblich durch diese pharmazeutische 35 Zubereitung beeinflußt zu werden.

Somit ergibt sich für die erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitung, insbesondere bestehend bei Hexadecylimidazoliumchlorid und micellar eingeschlossenem Quecksilbercyanid oder von 7-Hexadecylimidazolium-2,6-diamino-[4,5-d]pyrimidinchlorid oder auch das Bromid, eine Induktion, wenn auch 40 keine spezifische, von Interferon. Es kann kein Zweifel daran bestehen, daß Interferone nicht nur *in vitro* sondern auch *in vivo* nicht nur antiviral sondern auch immunregulatorisch wirksam sind. Obwohl der direkte antivirale Effekt auch *in vivo* bedeutsam sein kann, spielen im Organismus bei der Interferon-Wirkung, wie sie oben aufgezeichnet worden sind, weitere indirekte Mechanismen eine Rolle, z.B. die Aktivierung von Makrophagen speziell bei Influenza-Virus A und B. Die Tatsache, daß Interferon  $\gamma$  Makrophagen aktivieren kann, scheint auch im Hinblick auf bakterielle und parasitäre Infektionen wichtig zu sein, da bei deren 45 Abwehr Makrophagen eine entscheidende Rolle spielen.

#### Posologie und therapeutische Indikationen:

- 50 Die therapeutischen Indikationen sowie die Dosis ergeben sich durch die micellar eingeschlossenen Konzentrationen der pharmazeutischen Wirkstoffe:  
 -So bestehen Indikationen für aufkommende und bestehende Erkältungskrankheiten, die vornehmlich durch Influenza- und Rhinoviren verursacht werden;  
 -katarrhalische Entzündungen viruider Genese;  
 55 -Hautinfektionen und infektiöse Dermatosen;  
 -hartnäckige, antiseptische Wundbehandlung;  
 -Dermatomykosen;  
 -Mykosen;

- Prophylaxe und Therapie bakteriell bedingter Hautläsionen wie z.B. Pyodermie, Otitis media;
  - mikrobielle und sekundär infizierte Ekzeme;
  - Überempfindlichkeit gegen Makrolid-Antibiotika;
  - Akne, insbesondere entzündliche Formen mit Papeln und Pusteln;
  - 5 -bakterielle Infektionen und Sekundärinfektionen der Haut, sofern sie durch grampositive und/oder gramnegative meklocyclinsensible Keime hervorgerufen werden;
  - Akne vulgaris;
  - Verhütung von Nabelinfektionen;
  - chirurgische und traumatische Wunden;
  - 10 -lokaler Schutz vor Infektionen und mit Antibiotika empfindlichen Keimen infizierte Wunden;
  - Furunkel, Karbunkel, Abszess;
  - Dermatomykosen, verursacht durch Dermatophyten, Hefen, Schimmelpilze und anderen Pilzen, Pityriasis versicolor,
  - Erythrasma durch Cornebakterien;
  - 15 -Candidosen der Haut und Schleimhäute
  - Herpes simples I-III, Herpes-Keratitis
  - solare und senile Keratosen, prämaligne Veränderungen und oberflächliche Basaliome, auch in strahlengeschädigter Haut;
  - Plattenepitkarzinome der Haut und Mukosa im Kopf- und Halsbereich; dermatologische Malignome;
  - 20 Je nach Indikationsstellung und pharmazeutischem Wirkstoff richtet sich die spezielle Dosis. Da die Erhaltungs- und Anfangsdosis der hier beschriebenen pharmazeutischen Wirkstoffe bekannt sind, wird je nach Applikationsart und galenischer Zubereitung z. B. Cremes, Zäpfchen, Tropfen, Tabletten, Kapseln und liposomartige Verkapselungen nur 50 % der normalen therapeutischen Gesamtdosis benötigt, je nach Konzentration des micellar eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoffes.
- 25

Schilderung der Dosisreduzierung aufgrund des potenzierenden (synergistischen) Effektes:

- Micellen in wässriger Lösung, auch mit eingeschlossenen lipophilen Wirkstoffen, stehen im dynamischen Gleichgewicht mit ihren monomeren Tensiden, d.h. die Micellen ändern Form, Größe und Hydratation. U.a. verlassen monomere kationische Tenside eine einzelne Micelle, um sich an einer anderen Micelle in wässriger Lösung wieder einzugliedern, so daß - auch wenn die Konzentration des Tensides weit über der KMK liegt - immer eine gewisse Konzentration von fluktuierenden Monomeren besteht. Durch Zugabe des Potenzierungsgemisches wird diese Dynamik dahingehend gestört, daß
  - 30 1.) bei konstanter Temperatur und chemischen Potentials die Form, Größe und monodisperse Homogenität der isotropen Lösung erhalten bleibt, somit tritt auch kein Verlust an micellar eingeschlossenem lipophilen (hydrophoben) pharmazeutischen Wirkstoff ein.
  - 35 2.) Die Konzentration an Monomeren, welche destabilisierend auf die geometrische Form der Micelle wirkt, wird zugunsten eines Einbaues in die "vollständigen" Micelle in isotroper Lösung eingeschränkt. Dies bewirkt, daß das System einschließlich der micellar eingeschlossenen hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoffen "leckt". Dies wird vornehmlich dadurch verhindert, daß das Potenzierungsgemisch, insbesondere Glycerin und Dimethylsulfoxid, die Wasserstruktur an der externen Oberfläche der Micelle so einfrieren ("Tridymit-Struktur"), daß sie eisartige Strukturen annehmen und die Wassermoleküle sehr unbeweglich werden.
  - 40 45 3.) Die pharmazeutische Zubereitung wirkt aufgrund des potenzierenden Effektes durch Glycerin, wie z.B. in vitro gezeigt werden konnte, weniger zytotoxisch, d.h. es schädigt vornehmlich die beschädigte (infizierte) Zelle, weniger die gesunde Zelle im Zellverband.
- Die Erfindung weist insbesondere folgende Vorteile auf:
  - 50 Die in dieser Erfindung hergestellten N-Tenside, einschließlich ihrer verfahrensgemäßen Einschließung der Wirkstoffe, bedingt eine erhebliche, z.T. bis zu 80%ige Reduzierung der Toxizität der anorganischen Wirkstoffe, z.B. bei  $Hg(CN)_2$ , (auch  $HgCl_2$ ,  $Hg_2Cl_2$ ,  $Hg(NH_2)Cl$  [Präzipitat], ZnEDTA) und Zn Salzen im allgemeinen, als auch bei nephrotoxischen, ototoxischen Antibiotika, insbesondere bei Polymixinen, Erythromycin, Gentamycin, Tetrazyclin, von ca. 30 % da
  - 55 1.) die Micellen, als auch ihre eingeschlossenen Wirkstoffe, nicht - wegen ihrer Größe - resorbiert werden,
  - 2.) die micellar eingeschlossenen Wirkstoffe sich nur am Ort - meistens topisch - entfalten, so daß geringe Konzentrationen an Wirkstoff ausreichen, da zusätzlich noch der synergistische Effekt des N-Tensides besteht.

So wurde u.a. gefunden, daß der hemmende Effekt der Speichelsekretion von Atropin durch Hexadecylpyridiniumchlorid als auch durch Benzothiazolium-sulfat durch micellare Katalyse um das Zehnfache verstärkt wird, bei verfahrensgemäßer Herstellung der N-Tenside, pH ≤ 7,0. Die verstärkte Wirkung auf die Peripherie ist u.a. durch die micellare Auf trennung des Racemates in L(-) Hyocyamin verantwortlich (siehe Abbildung 1).

5 Auch stabilisiert z.B. Hexadecyl-benzthiazolium-sulfat das Atropin durch Einbeziehung der hydrophoben Molekülregionen des Atropins in den micellaren Kern.

Dieser Inhalt des Patentanspruches erstreckt sich auch auf die antiphlogistischen Eigenschaften der hier beschriebenen quartären organischen Ammoniumbasen. Das Gegenion Y<sup>-</sup> nimmt verfahrensbedingt Einfluß 10 auf die Größe, Form und micellare Stabilität, kann aber auch selber ein pharmazeutischer Wirkstoff sein, so daß eine Arzneimittelwirkung pharmakodynamisch verstärkt werden kann. Die hier beschriebenen Tenside haben den großen Vorteil, daß sie neben intrinsischen pharmakodynamischen Eigenschaften milieuabhängig 15 und darüber hinaus im sauren pH-Bereich stabil sind. Die verfahrensmäßigen erhältlichen Micellen als pharmazeutische Zubereitung mit eingeschlossenen lipophilen (hydrophoben) pharmazeutischen Wirkstoffen wirken als Träger für antimikrobielle, antivirale, keratolytische, antifungale und antineoplastische Wirkstoffe, können aber u.a. selber antimikrobielle, antifungal und antiviral und antiphlogistisch (topisch) wirksam sein.

Insbesondere beschreibt die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Zubereitung zur Herstellung von micellaren gelösten hydrophoben anorganischen Wirkstoffen wie Quecksilber-II-Cyanid, Zink, Wolfram und Antimon-Verbindungen sowie Salze der Phosphorsäure. Es wurde gefunden, daß diese anorganischen Verbindungen sowohl antivirale als auch antineoplastische Wirkungen haben.

Auch die Bildung von vesikulären Strukturen der quartären Ammoniumbasen von 4-und 3,5-substituierten Hexadecylpyridinium-Y<sup>-</sup> erfolgt spontan bei konstanter Temperatur, Druck, Ionenstärke einschließlich in Gegenwart von eingesetzten stöchiometrisch pharmazeutischen Wirkstoffen, welche sowohl vesikulär (Hohlraum) als auch micellar (doppelmembranartig) gebunden werden können.

25 Insbesondere bezieht sich die Erfindung auf ein verbessertes Herstellungsverfahren zur Erzeugung von multilamellaren Lipdbläschen auf der Basis von kationischen Tensiden, die dazu benutzt werden können, insbesondere lipophile (hydrophobe) pharmazeutische Wirkstoffe einzukapseln.

Die meisten bisher bekannten Verfahren leiden entweder an einer zu geringen Einkapselwirkung oder 30 an einer Begrenzung der Materialtypen, welche eingeschlossen werden sollen, oder auch an beiden. So sind bekanntermaßen die meisten dieser Prozesse auf den Einschluß hydrophiler Materialien und pharmazeutischer Wirkstoffe beschränkt und können nicht wirkungsvoll den Einschluß von lipophilen pharmazeutischen Wirkstoffen vornehmen. Im Gegensatz dazu sind alle derzeit verfügbaren Verfahren mit Ausnahme das von Banghan et al. (Biochim.Biophys.Acta 443:629-634, 1976) nur für die Einkapselung biologisch aktiver Substanzen in oligo-multilamellaren oder unilamellaren Liposomen geeignet.

35 Ein besonderer Vorteil dieser pharmazeutischen Zubereitung auf der Basis vesikulärer Strukturen von N<sup>+</sup>-Tensiden ist die hydrophobe Einkapselung von pharmazeutischen Wirkstoffen. Eine besonders vorteilhafte Folge der durch Ultraschallbehandlung und Gegenionen hergestellten großkalibrigen Vesikel ist darin zu sehen, daß die Gefahr des Austritts des pharmazeutischen Wirkstoffes aus der Bläschenhaut des Ansatzes reduziert oder eliminiert wird. Deshalb kann diese Form des quartären N<sup>+</sup>-Tenside auf der Basis 40 von sechsgliedrigen Heterozyklen, insbesondere für das Einkapseln hydrophober pharmazeutischer Wirkstoffe herangezogen werden, die dazu verwendet werden können, um lokale z.B. örtlich begrenzte statt systemische Wirkungen zu erzielen.

Während die meisten der bekannten Verfahren auf die Einkapselung hydrophiler Wirkstoffe beschränkt sind, kann mit dieser Erfindung die Einkapselung von hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoffen vorgenommen werden. Versuche haben gezeigt, daß sogar anorganische lipophile pharmazeutische Wirkstoffe wie z.B. Quecksilber-II-Cyanid mit hoher Wirksamkeit eingeschlossen werden können und ihre pharmakodynamische Wirkung durch das Potenzierungsgemisch noch verstärkt werden kann.

45 Dieser Nachteil wird durch die neuen N-Tenside der allgemeinen Formel II und neuer Benzethonium-Verbindungen wie auch die Vesikel auf der Basis von N<sup>+</sup>-Tensiden entweder durch micellaren Einschluß der pharmazeutischen Wirkstoffe oder durch kovalente Verknüpfung der Wirkstoffe mit dem N<sup>+</sup>-Tensid unter Beibehaltung der äußeren morphologischen Form der gesamten Micelle aufgehoben.

Bekannt ist die bakterizide Wirkung von Chlorhexidin bei grampositiven und grammnegativen Bakterien, jedoch resistent gegen grammnegative Bazillen. Gefunden wurde, daß micellare Lösungen von quartären Ammoniumbasen gemäß der allgemeinen Formel I und insbesondere II die 2-4 Gew.% Chlorhexidin 55 hydrophob im micellaren Kern gebunden halten, die Resistenz gegen grammnegative Bazillen aufgehoben

und ihre therapeutische Wirksamkeit im Verhältnis zum Chlorhexidin alleine verstärken. Die beobachteten Nebenwirkungen von Chlorhexidin wie Kontaktdermatiden, Hauteffekte topischer Art, Photosensibilität der Haut, finden bei verfahrensgemäßer Herstellung der micellaren Lösungen der N-Tenside der Formel I und II nicht statt.

- 5 Es ist Gegenstand der vorliegenden Erfindung, die eingangs erwähnte Heterogenität von Form und Größe der Micellen auch in Gegenwart von Potenzierungsgemischen abzustellen. Es wird somit gewährleistet, daß eine monodisperse Form von kationischen organischen Ammoniumbasen auch in Gegenwart von pharmazeutischen Wirkstoffen und Potenzierungsgemischen bei der Herstellung erreicht wird.
- Diese erfindungsgemäßen quartären organischen Ammoniumbasen beseitigen die oben geschilderten
- 10 Nachteile der bislang herkömmlichen Invertseifen. So besteht außerdem großes Interesse sowohl an der therapeutischen Verwendung von quartären Ammoniumbasen, die sowohl als pharmazeutischer Wirkstoff fungieren und als Träger von Wirkstoffen unterschiedlichster Art, z.B. antimikrobieller, antiviraler, antifungaler oder antineoplastischer Natur, micellar aufnehmen können. Sie sollen daher die eingangs genannten, vor allem milieu-bedingten Nachteile nicht besitzen.
- 15 Die erfindungsgemäßen, mit pharmazeutisch kovalent verbundenen Wirkstoffe, wie z.B. Pyrimidin- und Purinabkömmlinge am N<sub>1</sub> bzw. N<sub>7</sub>, auf der Basis von quartären Ammoniumbasen, haben den Vorteil
1. daß diese maskierten Antimetabolite aus der Pyrimidin-bzw. Purin-Reihe, keine intramolekulare Wechselwirkungen anionischer bzw. kationischer Natur eingehen. Sie sind neutral geladen (z.B. kein Nukleotid-dianion durch das Phosphat) und können daher ungehindert in die pro-bzw. eukaryontische Zelle diffundieren, so daß hohe intrazelluläre Antimetabolit-(z.B. 5'-Nukleotid) Konzentrationen erreicht werden;
  2. daß die pharmazeutischen Wirkstoffe durch N-C-Hydrolyse mittels der vorhandenen Enzymsysteme der germinalen bzw. eukaryontischen Zellen, erst am Target oder auch topisch freigesetzt werden;
  3. durch die Erhöhung der Hydrophobizität der Alkyl-bzw. Aryl-Kette bzw. Restes am N<sup>+</sup>-Tensid wird die Membran-Permeabilität erhöht, so daß die pharmazeutischen Wirkstoffe quantitativ passiv in das
- 20 Zytosol überreten können. Im Gegensatz zu Di-Anionen oder Kationen, welche die Membran unter physiologischen pH-Bedingungen und Ionenstärken schwer passieren können, ist dies bei den verfahrensgemäßen N<sup>+</sup>-Tensiden ungehindert;
4. die hohe Hydrophobizität bedingt auch einen hohen Verteilungskoeffizient im System CHCl<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O bei pH 8,0;
  5. durch die konzentrierte Aufnahme von hydrophoben bzw. hydrophilen pharmazeutischen Wirkstoffen wird zusätzlich zu den kovalent verankerten und die Wirkstoffkonzentration nach Penetration durch die germinale Membran, fungale Zellwand (Hemmung der Chitinsynthetase) oder virale Phospholipid-Doppelmembran durch einen Konzentrationsgradienten (extrazellulär - intrazellulär) erhöht. Dadurch resultiert eine geringe Anflutungszeit.
- 25 35 Im Gegensatz zu Liposomen als Träger von pharmazeutischen Wirkstoffen, wie sie z.B. in der US-Patentschrift 3,993,754 oder in der europäischen Patentschrift 0,102,324 genannt sind, haben diese hier erfindungsgemäß beschriebenen Micellen von quartären Ammoniumbasen die Vorteile,
1. daß sie wasserunlösliche Wirkstoffe micellar im sogenannten "liquid core" aufnehmen können, und dadurch sowohl topisch als auch enteral durch Öffnen der Micelle diese wasserunlöslichen Wirkstoffe
- 30 40 kontrolliert freisetzen können, z.B. Rimantadin, Amantadin, Tromantadin, die bei Influenza-Viren bzw. Herpes Simplex-Viren sowohl der Haut als auch des Auges wirksam sind.
2. wasserlösliche Wirkstoffe können sowohl im Sternlayer als auch micellar gelöst werden, wenn sie selber hydrophobe Bereiche haben, wie z.B. Polyen-Verbindungen, Tetrazykline, Aminoglykoside und aromatische Antimetabolite, z.B. Trifluorthymidin, Viderabin, Cytarabin, 5-Jod und 5-Fluor-desoxyuridin, 5-Ethyl-2'-desoxyuridin, Erythromycin und Nalidixinsäure.
- 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200 2205 2210 2215 2220 2225 2230 2235 2240 2245 2250 2255 2260 2265 2270 2275 2280 2285 2290 2295 2300 2305 2310 2315 2320 2325 2330 2335 2340 2345 2350 2355 2360 2365 2370 2375 2380 2385 2390 2395 2400 2405 2410 2415 2420 2425 2430 2435 2440 2445 2450 2455 2460 2465 2470 2475 2480 2485 2490 2495 2500 2505 2510 2515 2520 2525 2530 2535 2540 2545 2550 2555 2560 2565 2570 2575 2580 2585 2590 2595 2600 2605 2610 2615 2620 2625 2630 2635 2640 2645 2650 2655 2660 2665 2670 2675 2680 2685 2690 2695 2700 2705 2710 2715 2720 2725 2730 2735 2740 2745 2750 2755 2760 2765 2770 2775 2780 2785 2790 2795 2800 2805 2810 2815 2820 2825 2830 2835 2840 2845 2850 2855 2860 2865 2870 2875 2880 2885 2890 2895 2900 2905 2910 2915 2920 2925 2930 2935 2940 2945 2950 2955 2960 2965 2970 2975 2980 2985 2990 2995 3000 3005 3010 3015 3020 3025 3030 3035 3040 3045 3050 3055 3060 3065 3070 3075 3080 3085 3090 3095 3100 3105 3110 3115 3120 3125 3130 3135 3140 3145 3150 3155 3160 3165 3170 3175 3180 3185 3190 3195 3200 3205 3210 3215 3220 3225 3230 3235 3240 3245 3250 3255 3260 3265 3270 3275 3280 3285 3290 3295 3300 3305 3310 3315 3320 3325 3330 3335 3340 3345 3350 3355 3360 3365 3370 3375 3380 3385 3390 3395 3400 3405 3410 3415 3420 3425 3430 3435 3440 3445 3450 3455 3460 3465 3470 3475 3480 3485 3490 3495 3500 3505 3510 3515 3520 3525 3530 3535 3540 3545 3550 3555 3560 3565 3570 3575 3580 3585 3590 3595 3600 3605 3610 3615 3620 3625 3630 3635 3640 3645 3650 3655 3660 3665 3670 3675 3680 3685 3690 3695 3700 3705 3710 3715 3720 3725 3730 3735 3740 3745 3750 3755 3760 3765 3770 3775 3780 3785 3790 3795 3800 3805 3810 3815 3820 3825 3830 3835 3840 3845 3850 3855 3860 3865 3870 3875 3880 3885 3890 3895 3900 3905 3910 3915 3920 3925 3930 3935 3940 3945 3950 3955 3960 3965 3970 3975 3980 3985 3990 3995 4000 4005 4010 4015 4020 4025 4030 4035 4040 4045 4050 4055 4060 4065 4070 4075 4080 4085 4090 4095 4100 4105 4110 4115 4120 4125 4130 4135 4140 4145 4150 4155 4160 4165 4170 4175 4180 4185 4190 4195 4200 4205 4210 4215 4220 4225 4230 4235 4240 4245 4250 4255 4260 4265 4270 4275 4280 4285 4290 4295 4300 4305 4310 4315 4320 4325 4330 4335 4340 4345 4350 4355 4360 4365 4370 4375 4380 4385 4390 4395 4400 4405 4410 4415 4420 4425 4430 4435 4440 4445 4450 4455 4460 4465 4470 4475 4480 4485 4490 4495 4500 4505 4510 4515 4520 4525 4530 4535 4540 4545 4550 4555 4560 4565 4570 4575 4580 4585 4590 4595 4600 4605 4610 4615 4620 4625 4630 4635 4640 4645 4650 4655 4660 4665 4670 4675 4680 4685 4690 4695 4700 4705 4710 4715 4720 4725 4730 4735 4740 4745 4750 4755 4760 4765 4770 4775 4780 4785 4790 4795 4800 4805 4810 4815 4820 4825 4830 4835 4840 4845 4850 4855 4860 4865 4870 4875 4880 4885 4890 4895 4900 4905 4910 4915 4920 4925 4930 4935 4940 4945 4950 4955 4960 4965 4970 4975 4980 4985 4990 4995 5000 5005 5010 5015 5020 5025 5030 5035 5040 5045 5050 5055 5060 5065 5070 5075 5080 5085 5090 5095 5100 5105 5110 5115 5120 5125 5130 5135 5140 5145 5150 5155 5160 5165 5170 5175 5180 5185 5190 5195 5200 5205 5210 5215 5220 5225 5230 5235 5240 5245 5250 5255 5260 5265 5270 5275 5280 5285 5290 5295 5300 5305 5310 5315 5320 5325 5330 5335 5340 5345 5350 5355 5360 5365 5370 5375 5380 5385 5390 5395 5400 5405 5410 5415 5420 5425 5430 5435 5440 5445 5450 5455 5460 5465 5470 5475 5480 5485 5490 5495 5500 5505 5510 5515 5520 5525 5530 5535 5540 5545 5550 5555 5560 5565 5570 5575 5580 5585 5590 5595 5600 5605 5610 5615 5620 5625 5630 5635 5640 5645 5650 5655 5660 5665 5670 5675 5680 5685 5690 5695 5700 5705 5710 5715 5720 5725 5730 5735 5740 5745 5750 5755 5760 5765 5770 5775 5780 5785 5790 5795 5800 5805 5810 5815 5820 5825 5830 5835 5840 5845 5850 5855 5860 5865 5870 5875 5880 5885 5890 5895 5900 5905 5910 5915 5920 5925 5930 5935 5940 5945 5950 5955 5960 5965 5970 5975 5980 5985 5990 5995 6000 6005 6010 6015 6020 6025 6030 6035 6040 6045 6050 6055 6060 6065 6070 6075 6080 6085 6090 6095 6100 6105 6110 6115 6120 6125 6130 6135 6140 6145 6150 6155 6160 6165 6170 6175 6180 6185 6190 6195 6200 6205 6210 6215 6220 6225 6230 6235 6240 6245 6250 6255 6260 6265 6270 6275 6280 6285 6290 6295 6300 6305 6310 6315 6320 6325 6330 6335 6340 6345 6350 6355 6360 6365 6370 6375 6380 6385 6390 6395 6400 6405 6410 6415 6420 6425 6430 6435 6440 6445 6450 6455 6460 6465 6470 6475 6480 6485 6490 6495 6500 6505 6510 6515 6520 6525 6530 6535 6540 6545 6550 6555 6560 6565 6570 6575 6580 6585 6590 6595 6600 6605 6610 6615 6620 6625 6630 6635 6640 6645 6650 6655 6660 6665 6670 6675 6680 6685 6690 6695 6700 6705 6710 6715 6720 6725 6730 6735 6740 6745 6750 6755 6760 6765 6770 6775 6780 6785 6790 6795 6800 6805 6810 6815 6820 6825 6830 6835 6840 6845 6850 6855 6860 6865 6870 6875 6880 6885 6890 6895 6900 6905 6910 6915 6920 6925 6930 6935 6940 6945 6950 6955 6960 6965 6970 6975 6980 6985 6990 6995 7000 7005 7010 7015 7020 7025 7030 7035 7040 7045 7050 7055 7060 7065 7070 7075 7080 7085 7090 7095 7100 7105 7110 7115 7120 7125 7130 7135 7140 7145 7150 7155 7160 7165 7170 7175 7180 7185 7190 7195 7200 7205 7210 7215 7220 7225 7230 7235 7240 7245 7250 7255 7260 7265 7270 7275 7280 7285 7290 7295 7300 7305 7310 7315 7320 7325 7330 7335 7340 7345 7350 7355 7360 7365 7370 7375 7380 7385 7390 7395 7400 7405 7410 7415 7420 7425 7430 7435 7440 7445 7450 7455 7460 7465 7470 7475 7480 7485 7490 7495 7500 7505 7510 7515 7520 7525 7530 7535 7540 7545 7550 7555 7560 7565 7570 7575 7580 7585 7590 7595 7600 7605 7610 7615 7620 7625 7630 7635 7640 7645 7650 7655 7660 7665 7670 7675 7680 7685 7690 7695 7700 7705 7710 7715 7720 7725 7730 7735 7740 7745 7750 7755 7760 7765 7770 7775 7780 7785 7790 7795 7800 7805 7810 7815 7820 7825 7830 7835 7840 7845 7850 7855 7860 7865 7870 7875 7880 7885 7890 7895 7900 7905 7910 7915 7920 7925 7930 7935 7940 7945 7950 7955 7960 7965 7970 7975 7980 7985 7990 7995 8000 8005 8010 8015 8020 8025 8030 8035 8040 8045 8050 8055 8060 8065 8070 8075 8080 8085 8090 8095 8100 8105 8110 8115 8120 8125 8130 8135 8140 8145 8150 8155 8160 8165 8170 8175 8180 8185 8190 8195 8200 8205 8210 8215 8220 8225 8230 8235 8240 8245 8250 8255 8260 8265 8270 8275 8280 8285 8290 8295 8300 8305 8310 8315 8320 8325 8330 8335 8340 8345 8350 8355 8360 8365 8370 8375 8380 8385 8390 8395 8400 8405 8410 8415 8420 8425 8430 8435 8440 8445 8450 8455 8460 8465 8470 8475 8480 8485 8490 8495 8500 8505 8510 8515 8520 8525 8530 8535 8540 8545 8550 8555 8560 8565 8570 8575 8580 8585 8590 8595 8600 8605 8610 8615 8620 8625 8630 8635 8640 8645 8650 8655 8660 8665 8670 8675 8680 8685 8690 8695 8700 8705 8710 8715 8720 8725 8730 8735 8740 8745 8750 8755 8760 8765 8770 8775 8780 8785 8790 8795 8800 8805 8810 8815 8820 8825 8830 8835 8840 8845 8850 8855 8860 8865 8870 8875 8880 8885 8890 8895 8900 8905 8910 8915 8920 8925 8930 8935 8940 8945 8950 8955 8960 8965 8970 8975 8980 8985 8990 8995 9000 9005 9010 9015 9020 9025 9030 9035 9040 9045 9050 9055 9060 9065 9070 9075 9080 9085 9090 9095 9100 9105 9110 9115 9120 9125 9130 9135 9140 9145 9150 9155 9160 9165 9170 9175 9180 9185 9190 9195 9200 9205 9210 9215 9220 9225 9230 9235 9240 9245 9250 9255 9260 9265 9270 9275 9280 9285 9290 9295 9300 9305 9310 9315 9320 9325 9330 9335 9340 9345 9350 9355 9360 9365 9370 9375 9380 9385 9390 9395 9400 9405 9410 9415 9420 9425 9430 9435 9440 9445 9450 9455 9460 9465 9470 9475 9480 9485 9490 9495 9500 9505 9510 9515 9520 9525 9530 9535 9540 9545 9550 9555 9560 9565 9570 9575 9580 9585 9590 9595 9600 9605 9610 9615 9620 9625 9630 9635 9640 9645 9650 9655 9660 9665 9670 9675 9680 9685 9690 9695 9700 9705 9710 9715 9720 9725 9730 9735 9740 9745 9750 9755 9760 9765 9770 9775 9780 9785 9790 9795 9800 9805 9810 9815 9820 9825 9830 9835 9840 9845 9850 9855 9860 9865 9870 9875 9880 9885 9890 9895 9900 9905 9910 9915 9920 9925 9930 9935 9940 9945 9950 9955 9960 9965 9970 9975 9980 9985 9990 9995 10000 10005 10010 10015 10020 10025 10030 10035 10040 10045 10050 10055 10060 10065 10070 10075 10080 10085 10090 10095 10100 10105 10110 10115

4. Die hier beschriebene Erfindung hat den Vorteil, daß die micellar eingeschlossenen pharmazeutischen Wirkstoffe nicht wieder den micellaren Verband verlassen, wie z.B. bei Liposomen, die nach den bisher bekannten Verfahren "lecken". Die "Dichtigkeit" ("sealing") der vorliegenden Erfindung von micellar eingeschlossenen Wirkstoffen ist z.B. am Beispiel von micellar gebundenen radioaktiv markiertem Trifluorothymidin, Cytarabin und Idoxuridin nachzuweisen. So wurde u.a. gefunden, daß Idoxuridin erst nach 200 Tagen 5 Gew.% seiner ursprünglichen micellar eingeschlossenen Konzentration (2000 $\mu$ g) im Falle von Hexadecyl-pyridinium-oder Benzethonium-chlorid Micellen verloren. Die entsprechenden Werte für radioaktiv markiertes Trifluorothymidin und Cytarabin liegen bei 210 und 300 Tagen (20%).

5. Nach dem Verfahren der vorliegenden Erfindung lassen sich diese Micellen mit den eingeschlossenen anorganischen und organischen Wirkstoffen bei pH = 7,0 auf einfache Weise ohne großen apparativen Aufwand in wässriger Phase herstellen, welche kleine, einfache Micellen mit einem Durchmesser von ca. 50-100 Å und große Micellen mit einem Durchmesser von 600-10.000 Å -je nach Gegenion- enthalten. Außerdem werden durch ein Gemisch von Glycerol/Ethanol im Verhältnis von 2 Gew.% : 15 Gew.% gegenüber Wasser beide Micellen verschiedener Größeordnung sowohl in ihrer Form (Kugel, 15 Hemizylinder, Stab, Diskus) als auch in ihrer Kompaktheit durch Senkung der KMK, wie auch durch Reduktion der Freien Energie der gesamten Micelle in der wässrigen Phase infolge Verdünnung der Elektronendichte an der externen Oberfläche, stabilisiert. Mittels geeigneter Trennmethoden, z.B. HPLC, Ultrafiltration, Gelfiltration und/oder präparativer Zentrifugation kann man kleine von großen Micellen präparativ trennen.

6. Die Stabilität, Haltbarkeit und Lagerfähigkeit dieser so hergestellten Micellen aus quartären organischen Ammoniumbasen, pH = 7,0, gegenüber Temperatur, Dichtigkeit ("sealing and leaking") und Lagerfähigkeit ist durch die Einlagerung der pharmazeutischen Wirkstoffe in hydrophoben Kern der Micellen im Verhältnis zu den Micellen ohne Wirkstoffe bei gleichen Y<sup>-</sup> erhöht. Im Gegensatz zu den Liposomen tritt hier kein Schmelzen bei höherer Temperatur (>40°C) ein, sondern bei verfahrensgemäßer Herstellung ändern sich die hydrodynamischen Verhältnisse erst ab >60°C. Da bei zunehmender Temperatur diese so hergestellten Micellen von quartären Ammoniumbasen eher eine Reduzierung im hydrodynamischen Radius eingehen, daher kompakter werden, sind diese Art Micellen thermodynamisch stabiler als künstliche Liposomen oder Liposomen + quartäre Ammoniumbasen. Diese Vorgänge sind leicht im Routine-Verfahren durch inelastische Lichtstreuung bei der Herstellung zu prüfen.

7. Die Hydrophobizität bzw. die Penetration der H<sub>2</sub>O-Moleküle in diese so hergestellten Micellen und deren Beeinflussung durch anorganische pharmazeutische Wirkstoffe, z.B. Hg(CN)<sub>2</sub>, ZnEDTA, ZnSO<sub>4</sub>, ZnO, Wolframsäure-antimonate, K<sub>18</sub>(KW<sub>2</sub>Sb<sub>9</sub>O<sub>35</sub>)<sub>17</sub>, als auch der organischen Substanzen ließ sich durch NMR-Spektroskopie nachweisen:

Am Beispiel des 8-Ketohexadecylpyridinium-chlorid (8-KHPCl) kann man die erfindungsgemäße Anwendung der Aufnahme von pharmazeutischen Wirkstoffen demonstrieren. Folgerichtig wurde nun mehr gefunden, daß eine chemische Verschiebung von 146,6 ppm für eine 0,1 molare micellare Lösung in Wasser auftritt, die jedoch durch z.B. Hg(CN)<sub>2</sub> nach 147,2 ppm verschoben wird. Micellen in wässriger Lösung, die 0,05 molar an 8-KHPCl und 0,2 molar an CPCl (Cetylpyridiniumchlorid) sind, ergaben allerdings eine chemische Verschiebung von 147,2 ppm für das <sup>13</sup>C-Carbonyl-Signal von 8-KHPCl. Vergleicht man diese beiden Zahlen mit den Verschiebungen von 8-KHPCl in Methanol (145,7 ppm) und Acetonitril (144,0 ppm) wird deutlich, daß die CO-Gruppe in dieser Micelle eine weitgehend wässrige Umgebung einnimmt. Hg(CN)<sub>2</sub> spielt hierbei eine doppelte Rolle, die damit auch die therapeutische Breite in vitro bestimmt: der hydrophobe Charakter des Hg(CN)<sub>2</sub> bewirkt eine hohe Löslichkeit im hydrophoben Kern von z.B. Hexadecylpyridiniumchlorid als Monomer und bedingt eine chemische Verschiebung von δ<sub>CH</sub> 27,5 ppm <sup>13</sup>C der CH<sub>2</sub>-Kette auf 32,5 ppm, während in 8-KHPCl-Micellen Quecksilber II-cyanid in der Nähe der Ketogruppe (C<sub>9</sub>) als Hg<sub>2</sub>(CN)<sub>4</sub> in H<sub>2</sub>O (siehe oben) gelöst ist und durch diese H<sub>2</sub>O-Löslichkeit ist die Konzentration von Hg<sub>2</sub>(CN)<sub>4</sub> limitiert.

Abbildung 5 zeigt die Abhängigkeit der Extinktion der micellar eingeschlossenen anorganischen Wirkstoffe und des N-Phosphono-acetyl-L-aspartats in Hexadecylpyridiniumchlorid.

50

Legenden zu den Abbildungen, soweit sie noch nicht in der Beschreibung enthalten sind.

Ab b. 12:

55

1) Abhängigkeit des Stokes' Radius (hydrodynamischer Radius) von N-Cetyl-4-methyl-imidazolium-chlorid mit micellar eingeschlossenem Rimantadin gemessen durch inelastische Laser-Lichtstreuung von der Temperatur

2) Abhängigkeit des Stokes' Radius von N-Hexadecyl-5-carboxamid-chlorid mit mizellar eingeschlossenen 5-Fluor-cytosin von der Temperatur

3) Abhängigkeit des Stokes' Radius von 2,4-Dihydroxy-5-methyl-hexadecyl-pyridinium-chlorid mit mizellar eingeschlossenem Gentamycin von der Temperatur

5

**Abb. 8:**

1) Abhängigkeit des Stokes's Radius von Benzylidimethyl [2-[2-(p-1,1,3,3,tetramethylbutyl-p,p'-dimethyl-phenoxy) ethoxy]ethyl]ammonium-chlorid mit mizellar eingeschlossenem Viderabin von der Temperatur

2) Abhängigkeit des Stokes' Radius von Benzylidimethyl[2[2-(p-1,1,3,3,tetramethylbutyl-p,p'-dimethyl-phenoxy) ethoxy]ethyl]ammonium-chlorid mit 5-Tri-Fluor-thymedin von der Temperatur

15

**Abb. 7:**

1) Abhängigkeit des Stokes's Radius von 8-Ketohexadecylpyridinium-chlorid mit mizellar eingeschlossenem Z-Miconazol von der Temperatur

2) Abhängigkeit des Stokes' Radius von 8-Ketohexadecylpyridinium-chlorid mit mizellar eingeschlossenem Z-Miconazol + Hg(CN)<sub>2</sub> von der Temperatur

25

**Abb. 11:**

1) Abhängigkeit des Stokes' Radius von 3,5-bis [(n-hexadecyloxy) carbonyl] -N-methyl-pyridiniumchlorid mit lamellar eingeschlossenem Amantidin von der Temperatur; nicht ultraschallbehandelt

2) Abhängigkeit des Stokes' Radius von 3,5-bis [(n-hexadecyloxy) carbonyl] -N-methyl-pyridiniumchlorid mit lamellar eingeschlossenem Amantidin von der Temperatur; ultraschallbehandelt

3) Abhängigkeit des Stokes' Radius von 3,5-bis (n-hexadecyloxy) carbonyl -N-methyl-pyridiniumchlorid mit lamellar eingeschlossenem Rimantadin von der Temperatur; ultraschallbehandelt

35

**Abb. 13:**

1) Abhängigkeit des Stokes' Radius von N-Hexadecyl-pyridiniumchlorid und mizellar eingeschlossenem Hg(CN)<sub>2</sub> von der Temperatur; nicht ultraschallbehandelt

2) Abhängigkeit des Stokes' Radius von N-Hexadecyl-pyridiniumchlorid und mizellar eingeschlossenem Hg(CN)<sub>2</sub> von der Temperatur; ultraschallbehandelt

40

### Ansprüche

#### 1. Pharmazeutische Zubereitung,

dadurch gekennzeichnet,  
daß sie aufgebaut ist aus einer Micelle, bestehend aus einem kationischen Tensid mit einem einwertigen Anion und einem hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoff, dispergiert in einem Lösungsmittel, dessen pH-Wert kleiner  $\leq 7$  ist, wobei die kritische Micellbildungskonzentration (KMK) im Bereich von  $1,0 \cdot 10^{-7}$  bis  $1,5 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter liegt.

50 2. Pharmazeutische Zubereitung,

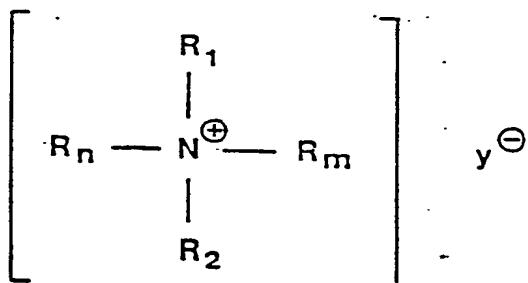
nach Anspruch 1  
dadurch gekennzeichnet,  
daß sie aufgebaut ist aus einer Micelle, bestehend aus einem kationischen Tensid mit einem einwertigen Anion in einer Menge von 0,01 bis 0,1 Gewichts.% bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, und einem hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoff in einer Menge von 0,001 bis 0,5 Gew.% bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, dispergiert in einem Lösungsmittel, dessen pH-Wert  $\leq 7,0$  ist, in einer Menge von 99,40 bis 99,989 Gew.% bezogen auf die gesamte pharmazeutische Zubereitung, wobei die kritische Micellbildungskonzentration (KMK) im Bereich von  $1,0 \cdot 10^{-7}$  Mol/l bis  $1,5 \cdot 10^{-4}$  Mol/l liegt.

3. Pharmazeutische Zubereitung,  
nach Anspruch 1 oder 2,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß das kationische Tensid eine Verbindung der allgemeinen Formel

5

10

15



ist, wobei

$R_1$  = ein Alkylrest mit 1 - 12 C-Atomen oder ein Aralkylrest,

$R_2$  = ein Alkylrest mit 1 - 12 C-Atomen oder ein Aralkylrest,

$R_n$  = ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest, substituiert oder nicht substituiert, mit 1 - 22 C-Atomen, vorzugsweise 10 - 20 C-Atomen oder ein Alkenylrest mit 8 - 20 C-Atomen, vorzugsweise 8 - 10 C-Atomen oder ein 5- oder 6-gliedriger aromatischer Heterozyklus mit einem oder 2 Stickstoffatomen, und wahlweise eine Schwefelatom oder einem Sauerstoffatom und

$R_m$  = ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest, substituiert oder nicht substituiert, mit 1 - 22 C-Atomen, vorzugsweise 10 - 20 C-Atomen oder ein Alkenylrest mit 8 - 20 C-Atomen, vorzugsweise 8 - 10 C-Atomen oder ein 5- oder 6-gliedriger aromatischer Heterozyklus mit einem oder 2 Stickstoffatomen, und wahlweise einem Schwefelatom oder einem Sauerstoffatom oder ein Chinoliniumrest und

$y^-$  = ein einwertiges Anion ist.

4. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß  $R_1$  ein Alkylrest mit 6 C-Atomen ist.

5. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß  $R_2$  ein Alkylrest mit 6 C-Atomen ist.

6. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß  $R_n$  ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest mit 12 bis 16 C-Atomen ist.

7. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß  $R_m$  ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest mit 12 bis 16 C-Atomen ist.

8. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß  $R_n$  ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest mit 10 C-Atomen ist.

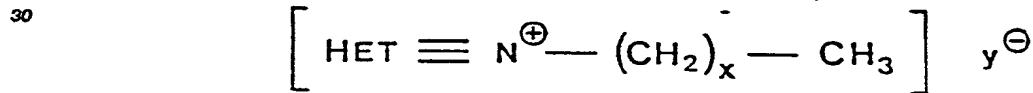
9. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß  $R_m$  ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest mit 10 C-Atomen ist.

10. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß  $R_n$  ein geradkettiger Alkenylrest mit 10 C-Atomen ist.

11. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhandenen Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß  $R_n = R_1 = R_2$  ein Methylrest ist.

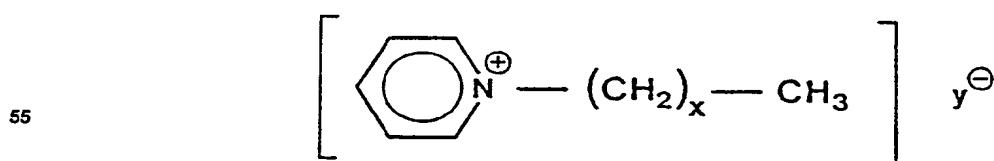
12. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß  $R_n$  der n-Hexadecyl (Cetyl)-Rest ist.

13. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß R<sub>m</sub> ein n-Hexadecyl (Cetyl)-Rest ist.
14. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
5 dadurch gekennzeichnet,  
daß R<sub>n</sub> 2-oder 4-Methyl oder 2-oder 4-Ethylpyridinium ist.
15. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß R<sub>n</sub> 2-Methyl-oder 2-Ethylimidazolinium ist.
- 10 16. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß R<sub>n</sub> 2-Methyl-8-chlorchinolinium ist.
17. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,
- 15 18. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß R<sub>n</sub> 2-Methyl-oder 2-Ethylimidazolinium ist.
19. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
20 dadurch gekennzeichnet,  
daß R<sub>m</sub> 2-Methyl-8-chlorchinolinium ist.
20. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß das einwertige Anion Chlorid, Bromid, Jodid, Formiat, Acetat, Propionat, Hydrogensulfat, Malat,  
25 Fumarat, Salizylat, Alginat, Glukonat oder Ethylsulfat ist.
21. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß das kationische Tensid die Formel



- 35 besitzt, wobei  
Het= N<sup>+</sup>-ein substituierter oder nichtsubstituierter Pyridiniumrest oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Pyrimidiniumrest oder  
ein substituierter Pyrazin-(1,4-Diazinium)rest oder  
ein Imidazoliumrest (4,5-d)pyrimidin Rest substituiert oder nicht substituiert, oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Imidazolium-Rest oder  
40 ein substituierter oder nicht substituierter Pyrazoliumrest, oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Thiazoliumrest, oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Benz-thiazoliumrest, oder  
ein substituierter oder nicht substituierter Benz-imidazoliumrest,  
x = 8 bis 20 und  
45 y<sup>-</sup> = die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20  
bedeuten.

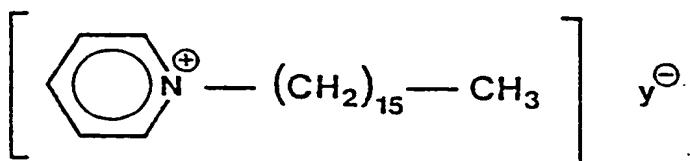
- 50 22. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß das kationische Tensid ein N-Alkyl-pyridinium der Formel



ist, wobei y<sup>-</sup> die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

23. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß das kationische Tensid ein Hexadecylpyridinium der Formel

5

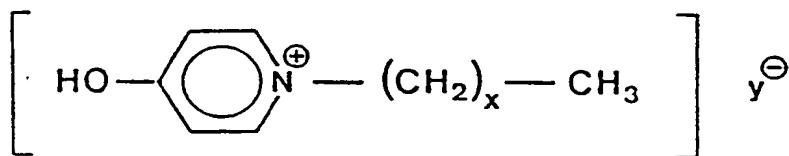


10

ist, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

24. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
15 daß das kationische Tensid ein N-Alkyl-4-hydroxypyridinium der Formel

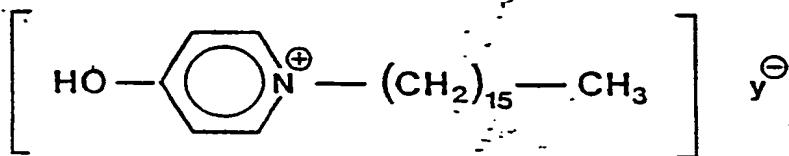
20



ist, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

25. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß das kationische Tensid ein Hexadecyl-4-hydroxypyridinium der Formel

30

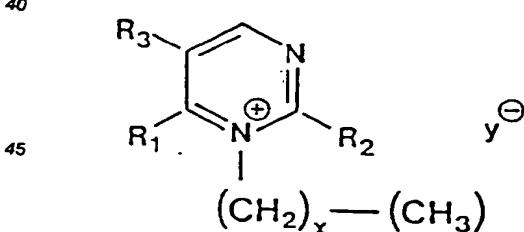


35

ist, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

26. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 2,5,6 substituierte N<sub>1</sub>-Alkyl-pyrimidinium-Verbindungen der Formel

40

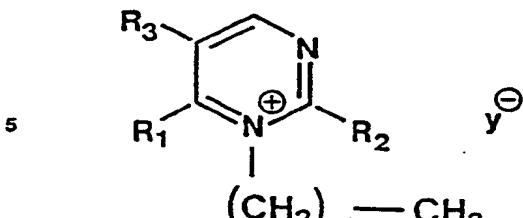


50

- $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$   
 $\text{R}_1 = \text{NH}_2; \text{R}_2 = \text{OH}; \text{R}_3 = \text{H}$   
 $\text{R}_1 = \text{NH}_2; \text{R}_2 = \text{OH}; \text{R}_3 = \text{H}$   
 $\text{R}_1 = \text{OH}; \text{R}_2 = \text{OH}; \text{R}_3 = \text{CH}_3$   
 $\text{R}_1 = \text{OH}; \text{R}_2 = \text{OH}; \text{R}_3 = \text{H}$   
 $\text{R}_1 = \text{F}; \text{R}_2 = \text{OH}; \text{R}_3 = \text{H}$   
 $\text{R}_1 = \text{OH}; \text{R}_2 = \text{OH}; \text{R}_3 = \text{F}$

- 55 sind, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

27. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß das kationische Tensid ein 2,5,6 substituiertes N<sub>1</sub>-Hexadecylpyrimidinium der Formel

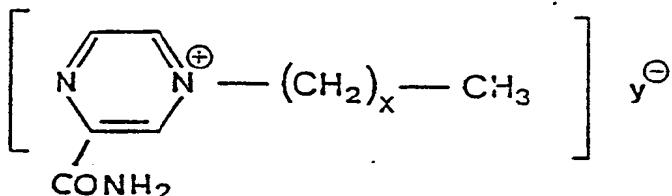


70

- 15 ist, wobei  $\gamma^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

28. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß das kationische Tensid ein 4-n-Alkyl-pyrazinium-2-carboxamid der Formel

20



25

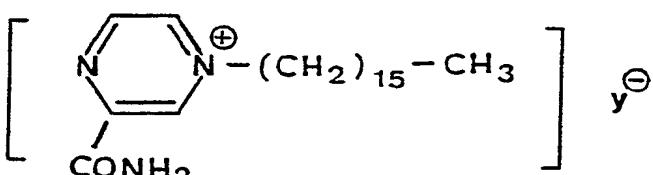
ist wobei  $\gamma^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

#### **29. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergenden Ansprüche**

30 dadurch gekennzeichnet

daß das kationische Tensid ein 4-Hexadecylpyrazinium-2-carboxamid der Formel

35



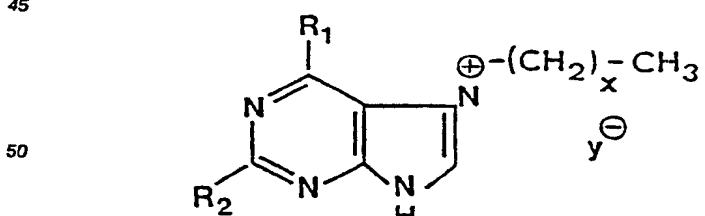
40

ist, wobei  $\text{y}^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

30. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet:

dadurch gekennzeichnet, daß das kationische Tropid ein Z- $\alpha$ -Alkyl-imidazotium [1,5-(dimethylamino)-5-

65



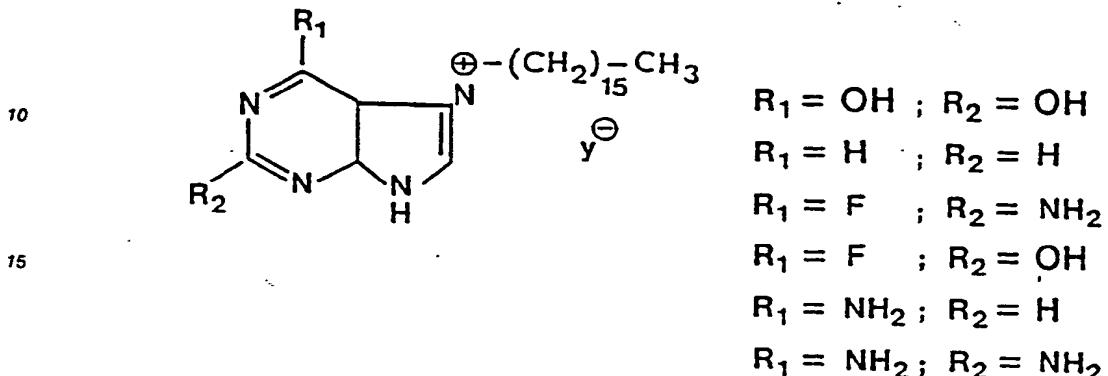
55

- $R_1 = OH ; R_2 = OH$
  - $R_1 = H ; R_2 = H$
  - $R_1 = F ; R_2 = NH_2$
  - $R_1 = F ; R_2 = OH$
  - $R_1 = NH_2 ; R_2 = H$
  - $R_1 = NH_2 ; R_2 = NH_2$

ist, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

31. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß das kationische Tensid ein 7-Hexadecylimidazolium [4,5-d]pyrimidin der Formel

5

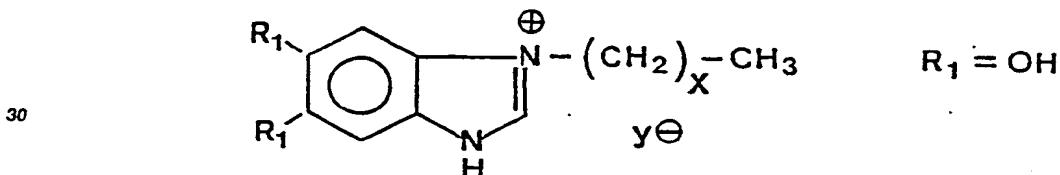


20

ist, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

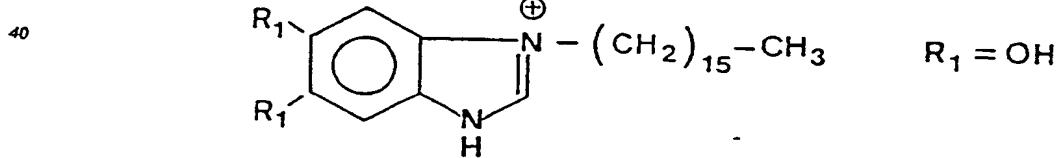
32. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 3-n-Alkyl-5-6-substituierte Benzimidazolium-Verbindungen der Formel

25



sind, wobei  $\gamma^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten

33. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 3-Hexadecyl-5,6-substituierte Benzimidazolium-Verbindungen der Formel

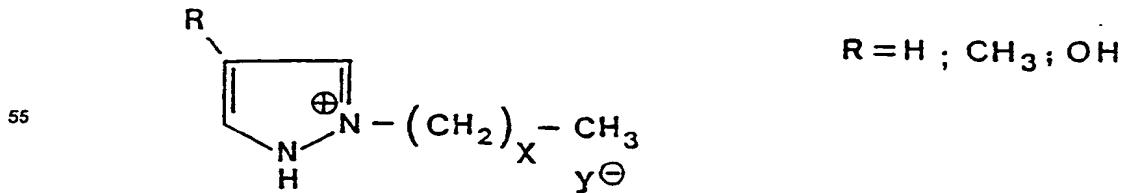


45

besitzt, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

34. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 4-substituierte n-Alkyl-2-pyrazolium-Verbindungen der Formel

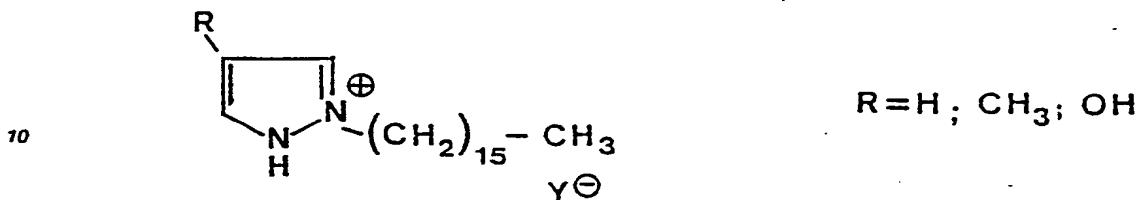
50



sind, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

35. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 4-substituierte 2-Hexadecylpyrazolium-Verbindungen der Formel

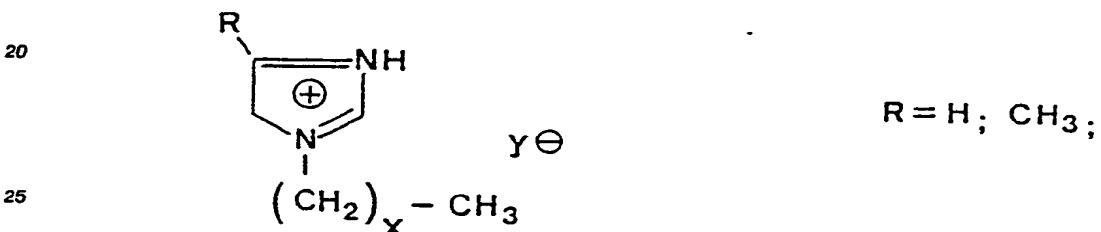
5



besitzt, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

36. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 1-n-Alkyl-4-substituierte Imidazolium-Verbindungen der Formel

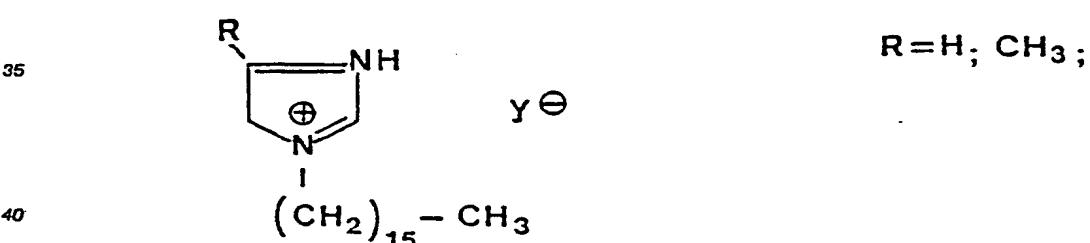
20



besitzt, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

37. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 1-Hexadecyl-4-substituierte Imidazolium-Verbindungen der Formel

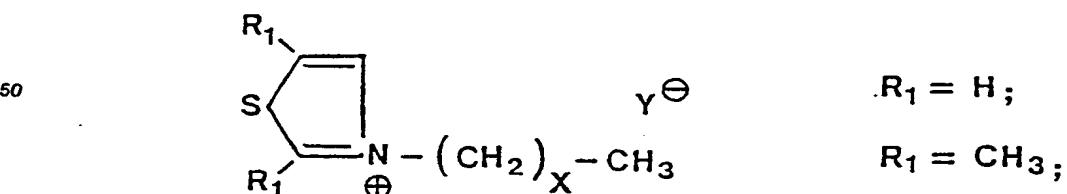
35



besitzt, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

38. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 3-n-Alkyl-5,6-substituierte Thiazolium-Verbindungen der Formel

50

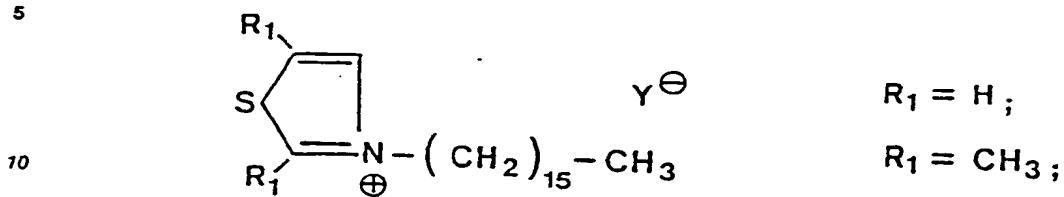


55

besitzt, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

39. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 3-Hexadecyl-5,6-substituierte Thiazolium-Verbindungen der Formel

5



10

besitzt, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

40. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 3-n-Alkyl-5,6-substituierte-Benzthiazolium-Verbindungen der Formel

20

$R_1 = R_2 = \text{H}$

25

$R_1 = \text{CH}_3$

25

$R_1 = R_2 = \text{OH}$

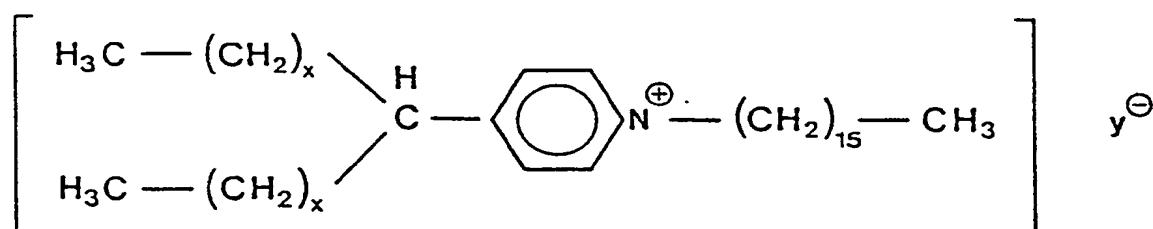
$R_1 = R_2 = \text{CH}_3$

sind, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

41. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 4-[1,1bis n-Alkyl (Niederalkyl)] N-Hexadecylpyridinium-Verbindungen der Formel

35

40

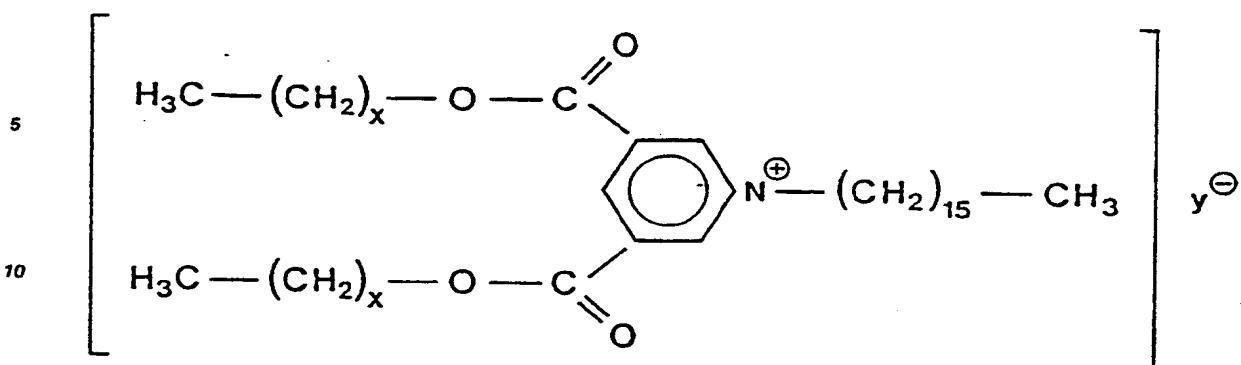


sind, wobei  $y^-$  die Anionen gemäß dem Patentanspruch 20 bedeuten.

42. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die kationischen Tenside 3,5-bis [(n-Alkyloxy)carbonyl] N-Hexadecylpyridinium-Verbindungen der Formel

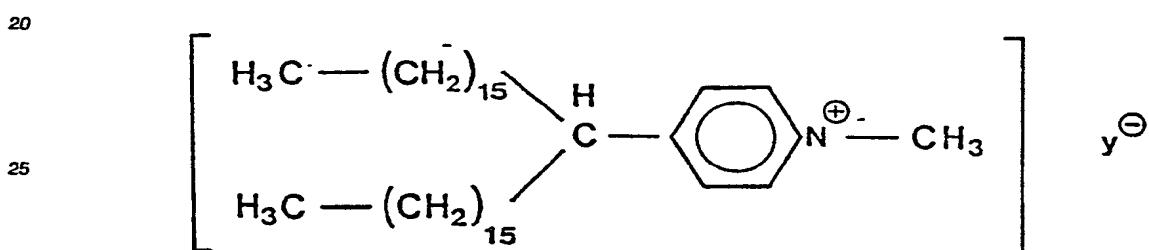
50

55



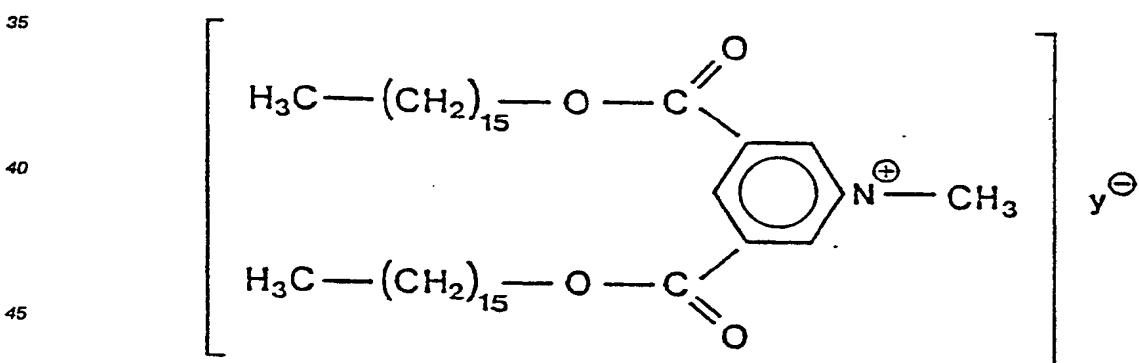
15 sind, wobei die  $y^-$  die Anionen gemäß dem Anspruch 20 bedeuten.

43. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das kationische Tensid ein 4-(17-triacontyl)-N-methyl-pyridiniumchlorid der Formel



ist.

30 44. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das kationische Tensid ein 3,5-bis[(n-hexadecyloxy)carbonyl]-N-methyl-pyridiniumchlorid der Formel



ist.

50 45. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das kationische Tensid die Formel



59. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein antimikrobieller Wirkstoff ist.
60. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
5 dadurch gekennzeichnet,  
daß der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein antifungaler Wirkstoff ist.
61. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein antiproliferativer Wirkstoff ist.
62. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
10 dadurch gekennzeichnet,  
daß der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein antiviraler Wirkstoff ist.
63. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
15 daß der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff eine anorganische Verbindung der Elemente Zink oder Quecksilber oder Wolfram und/oder Antimon ist.
64. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden, Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die anorganische Verbindung  $Z_nSO_4$  ist.
65. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
20 dadurch gekennzeichnet,  
daß die anorganische Verbindung  $Z_nO$  ist.
66. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
25 daß die anorganische Verbindung  $Hg(CH)_2$  ist.
67. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die anorganische Verbindung  $(NH_4)_{18}(NaW_2S_5O_6)_{17}$  ist.
68. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
30 dadurch gekennzeichnet,  
daß die anorganische Verbindung ein Alkali-oder Erdalkalisalz der Phosphorsäure  $ROP(O)Me_2$  ist.
69. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die anorganische Verbindung ein N-Phosphonoacetyl-1-aspartat ist.
70. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
35 dadurch gekennzeichnet,  
daß der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein Antibiotikum ist.
71. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
40 daß das Antibiotikum Daunomycin und/oder Adriamycin und/oder Canamycin und/oder Gentamycin und/oder Neomycin und/oder Polymyxine und/oder Tobramycin und/oder Amikacin und/oder Tetracyclin und/oder Chloramphenicol und/oder Erythromycin und/oder Clindamycin und/oder Rifampicin und/oder Bacitrazin und/oder Thyrotrozin ist.
72. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
45 dadurch gekennzeichnet,  
daß der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein antiviraler Wirkstoff ist.
73. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
50 daß der antivirale Wirkstoff Idoxuridin und/oder 5-Ethyl-2'-desoxyuridin und/oder Trifluorothymidin und/oder Ribavirin und/oder Amantadin und/oder Rimantadin und/oder Vidarabin und/oder 2,6-di-amino-kuban und/oder 1,1':3,3'-Bis-cyclobutan und/oder Dehydrokuban und/oder 2,6-Di-amino des Kubans ist.
74. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
55 daß der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein antifungaler Wirkstoff ist.

75. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der antifungale Wirkstoff 5-Fluorcytosin und/oder Clotrimazol und/oder Econazol und/oder Miconazol und/oder Oxyconazol (Z-Form) und/oder Amphotericin B und/oder Nystatin und/oder Zn, O.EDTA und/oder Hg<sub>2</sub>(CN)<sub>4</sub> und/oder Polyoxinen ist.
76. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff ein antineoplastischer Wirkstoff ist.
77. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der antineoplastische Wirkstoff 5-Fluorcytosin und/oder Hg(CH)<sub>2</sub> und/oder Hg(CH)<sub>2</sub>-(Ascorbat)<sub>4</sub> oder Hg(CH)<sub>2</sub>(Acetylacetonat)<sub>4</sub> und/oder Azauridin und/oder Cytarabin und/oder Azarabin und/oder 6-Merkaptopurin und/oder Desoxycoformycin und/oder Azathioprin und/oder Thioguanin und/oder Vinblastin und/oder Vincristin und/oder Daunorubicin und/oder Doxorubicin ist.
78. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß das Lösungsmittel Wasser und/oder Ethanol und/oder Glycerin ist.
79. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß das Lösungsmittel Wasser und/oder Ethanol und/oder Dimethylsulfoxid (DMSO) ist.
80. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß x in der allgemeinen Formel des kationischen Tensids in Anspruch 21 den numerischen Wert 14 hat.
81. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß zur ihrer Herstellung die kationischen Tenside der allgemeinen Formel
- [HET=N<sup>+</sup> -(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>-CH<sub>3</sub>] Y<sup>-</sup>
82. verwendet werden, wobei  
HET = N<sup>+</sup>- und Y<sup>-</sup> die in Anspruch 21 angegebenen Bedeutungen haben.
83. Pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der pH-Wert des Lösungsmittels gleich 5 ist.
84. Verfahren zur Herstellung der pharmazeutischen Zubereitung nach einem der Ansprüche 1 - 82,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß zunächst in einem Reaktionsgefäß das Lösungsmittel vorgelegt wird, dann das kationische Tensid unter Röhren bei Zimmertemperatur zugegeben wird, dann zur entstandenen isotropen micellaren Lösung der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff unter Röhren bei Zimmertemperatur zugegeben wird und bis zu dessen vollständiger Lösung weitergeführt wird.
85. Verfahren zur Herstellung der N-alkylierten quaternären stickstoffhaltigen Heterozyklen nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der zu alkylierende Heterozyklus in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst wird, anschließend unter stetem Röhren die stöchiometrische Menge n-Alkyl-halogenid zugegeben wird, anschließend unter stetem Röhren am Rückfluß über eine geraume Zeit erhitzt wird, wonach das Endprodukt nach dem Abkühlen ausfällt.
86. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die zu alkylierenden Verbindungen des Pyrimidins in einem Lösungsmittel gelöst werden, die

stöchiometrische Menge von n-Alkyl-magnesium-halogeniden in einem geeigneten Lösungsmittel unter stetem Rühren zugetropft wird, auf 40 - 80°C erwärmt wird und weiter gerührt wird für 12 Stunden, und die Reaktion durch Zugabe von 50 gew.-%-iger Bromwassersäure beendet wird.

87. Verfahren zur Herstellung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
5 dadurch gekennzeichnet,  
daß das Lösungsmittel 1,2-Dimethoxy-ethan und/oder n-Heptan ist.
88. Verfahren zur Herstellung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die zu alkylierenden Verbindungen der 7-n-Alkyl-imidazolinium [4,5-d] pyrimidine in einem geeigneten  
10 Lösungsmittel gelöst werden, unter gleichzeitiger Zugabe von Triethyloxonium-borfluorid ( $\text{Et}_3\text{OBF}_4$ ) und das entsprechende n-Alkyl-halogenid, das ebenfalls in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst ist, unter stetem Rühren zugetropft wird, und die Reaktion unter stetem Rühren bei 65 - 80°C nach 16 Stunden beendet wird, wonach das Reaktionsprodukt nach dem Abkühlen ausfällt.
89. Verfahren zur Herstellung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
15 dadurch gekennzeichnet,  
daß die Lösungsmittel gemäß Anspruch 88 Azeton oder Di-iso-butyl-keton oder iso-Butyl-ethyl-keton sind.
90. Verfahren zur Herstellung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß entweder das Reaktionsgefäß ein Reaktionskolben mit Rührwerk, Zutropfvorrichtung und Heizungseinrichtung ist oder das Reaktionsgefäß ein Edelstahl-Autoklav mit Druck-und Temperaturanzeige ist.
91. Verwendung der stickstoffhaltigen Heterozyklen nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche zur Herstellung von micellaren oder vesikulären Strukturen in polaren oder unpolaren-Lösungsmitteln, insbesondere mit extrem niedriger KMK.
92. Verwendung der stickstoffhaltigen Heterozyklen nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche zur Aufnahme von hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoffen bei pH 6 - 8 in polaren Lösungsmitteln oder unpolaren Lösungsmitteln.
93. Verwendung der stickstoffhaltigen Heterozyklen nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche als eigenständige pharmazeutische Wirkstoffe bei pH 6 - 8 in polaren Lösungsmitteln.
94. Verwendung der stickstoffhaltigen Heterozyklen nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche als spektroskopische Marker (Reporter-Gruppen), in immunologischen und klinisch-biochemischen Analyseverfahren sowie zu kolloid-chemischen Meßverfahren zur Bestimmung der KMK.

35

40

45

50

55

0 257 400

$$\bar{V} = \frac{R_H}{R_H} ; \text{ Varianz}$$

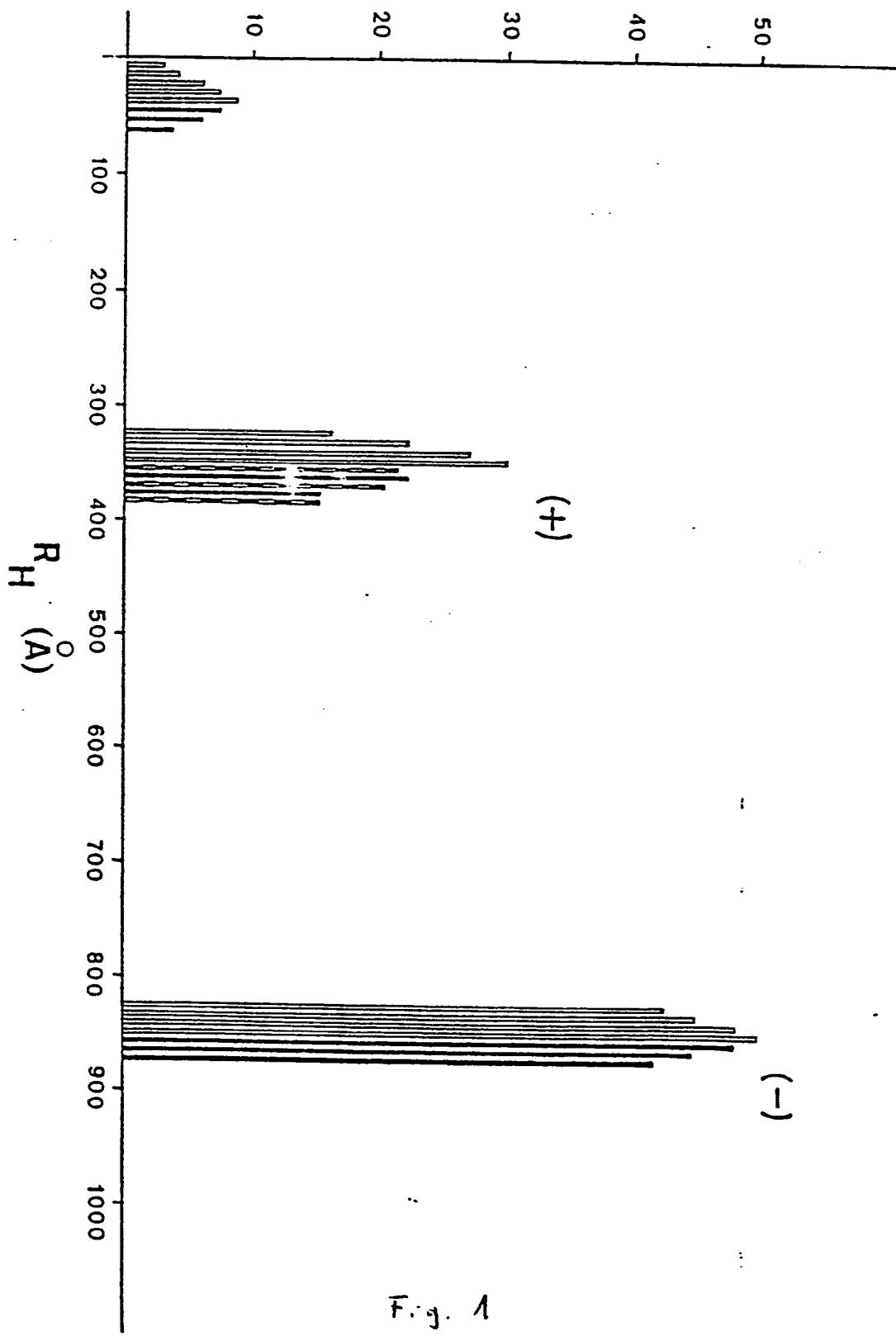


Fig. 1

0 257 400

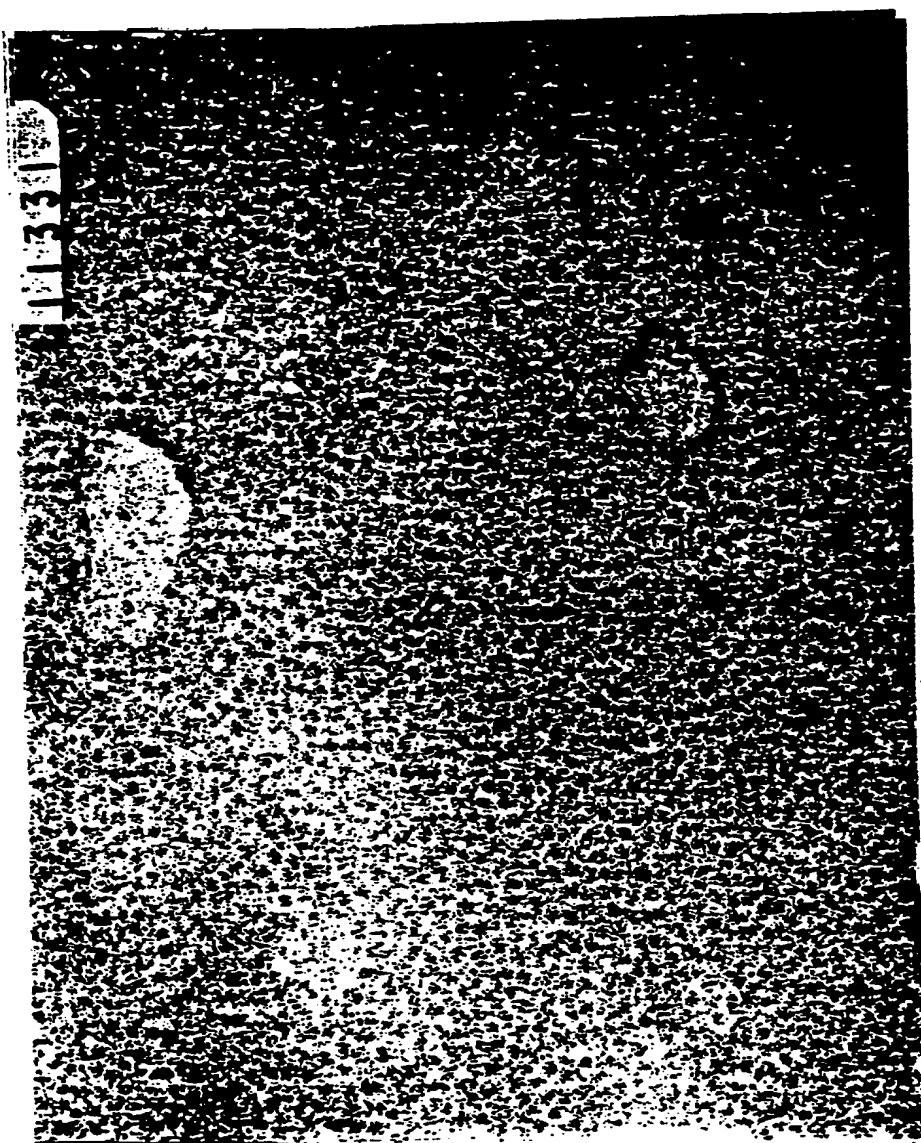


Abb. 2

0 257 400

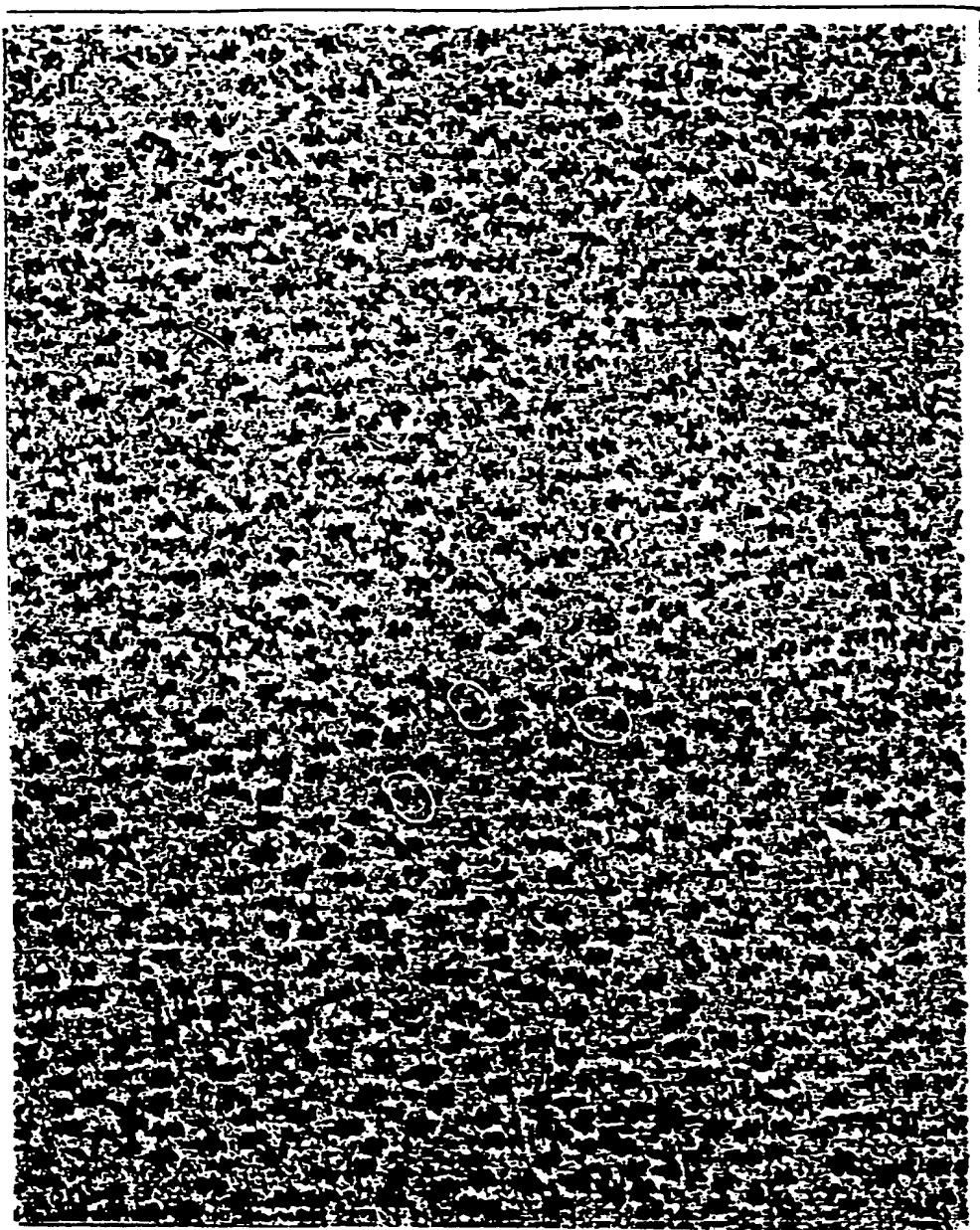


Abb. 3

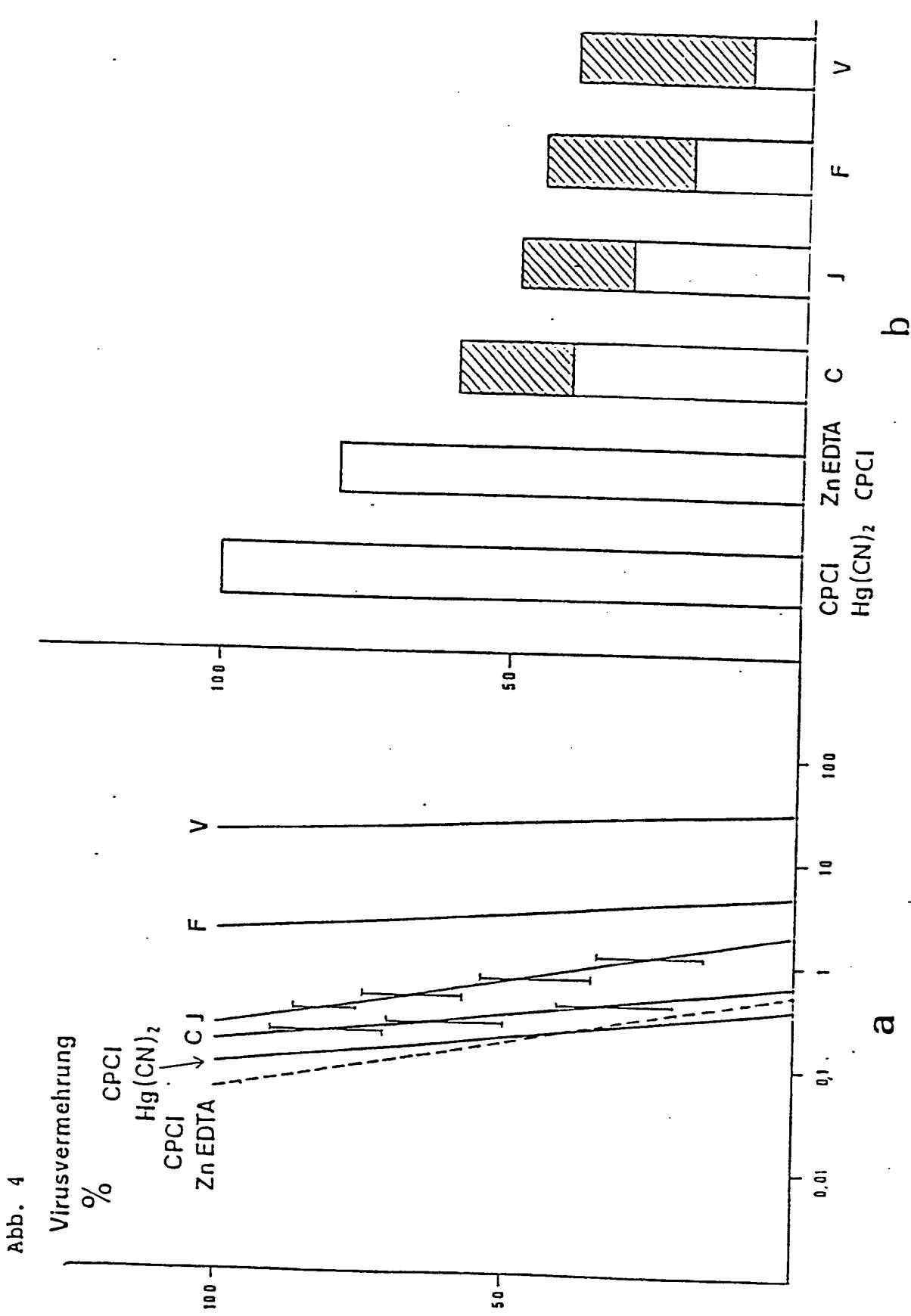
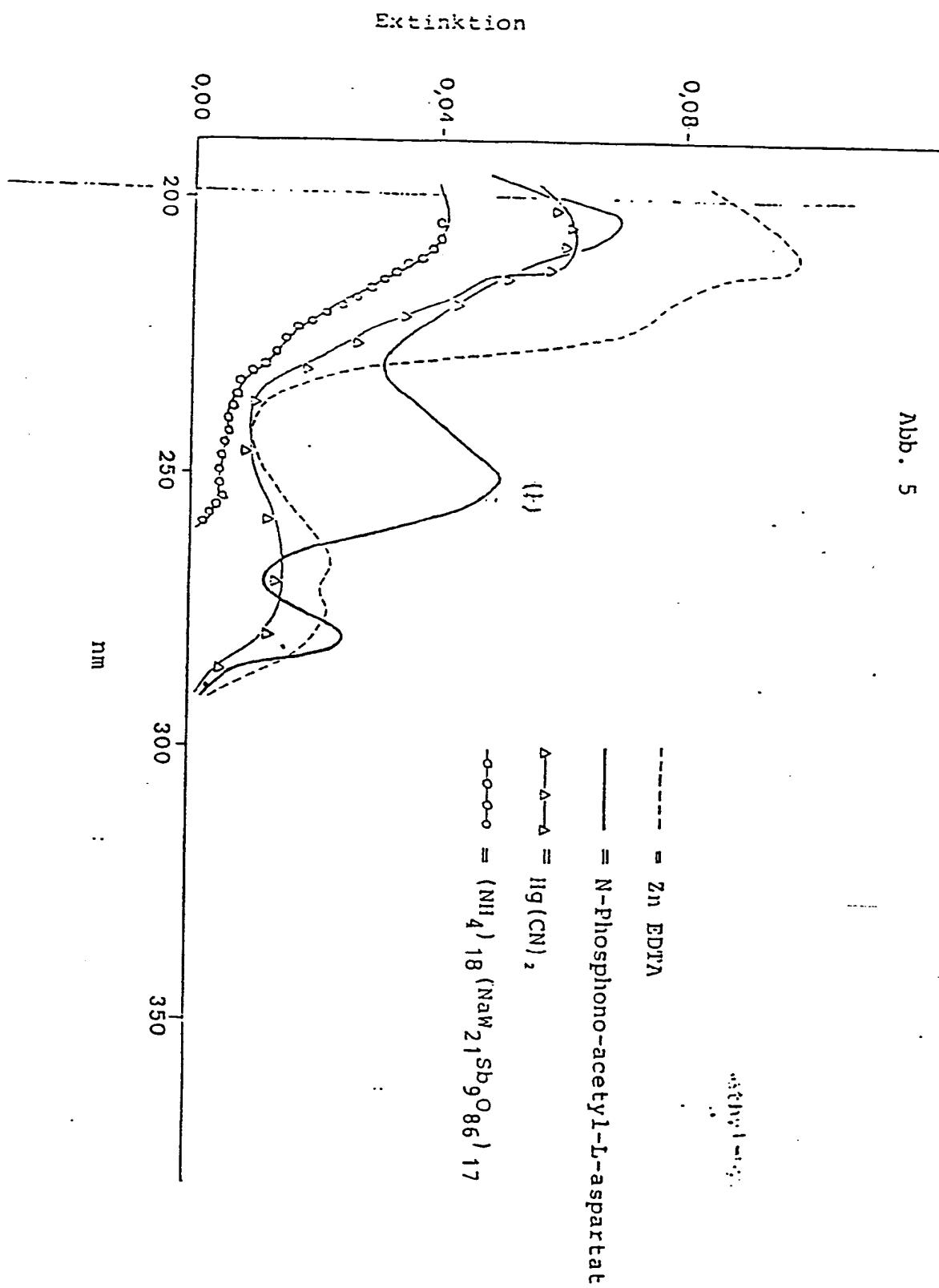
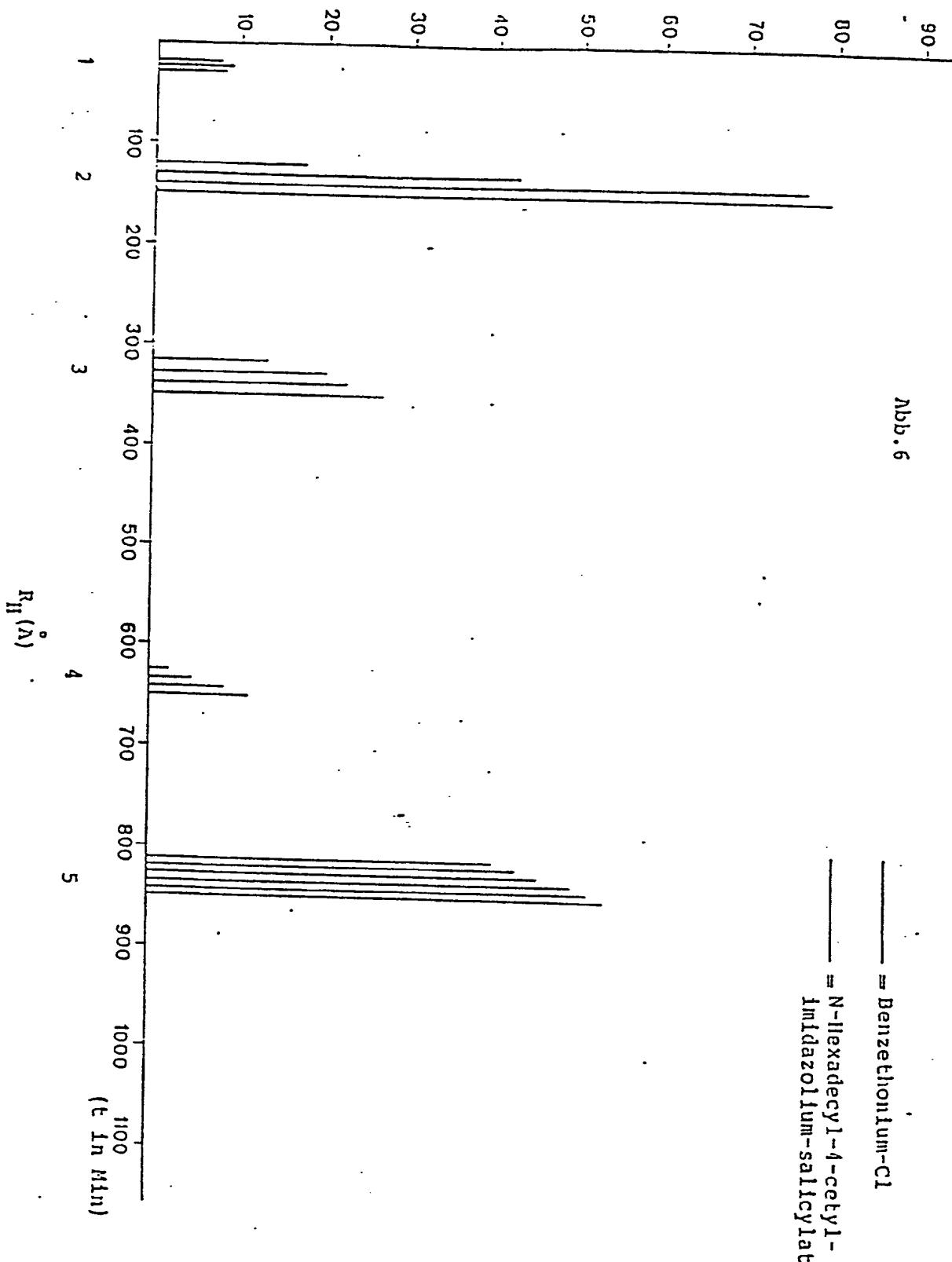


Abb. 5

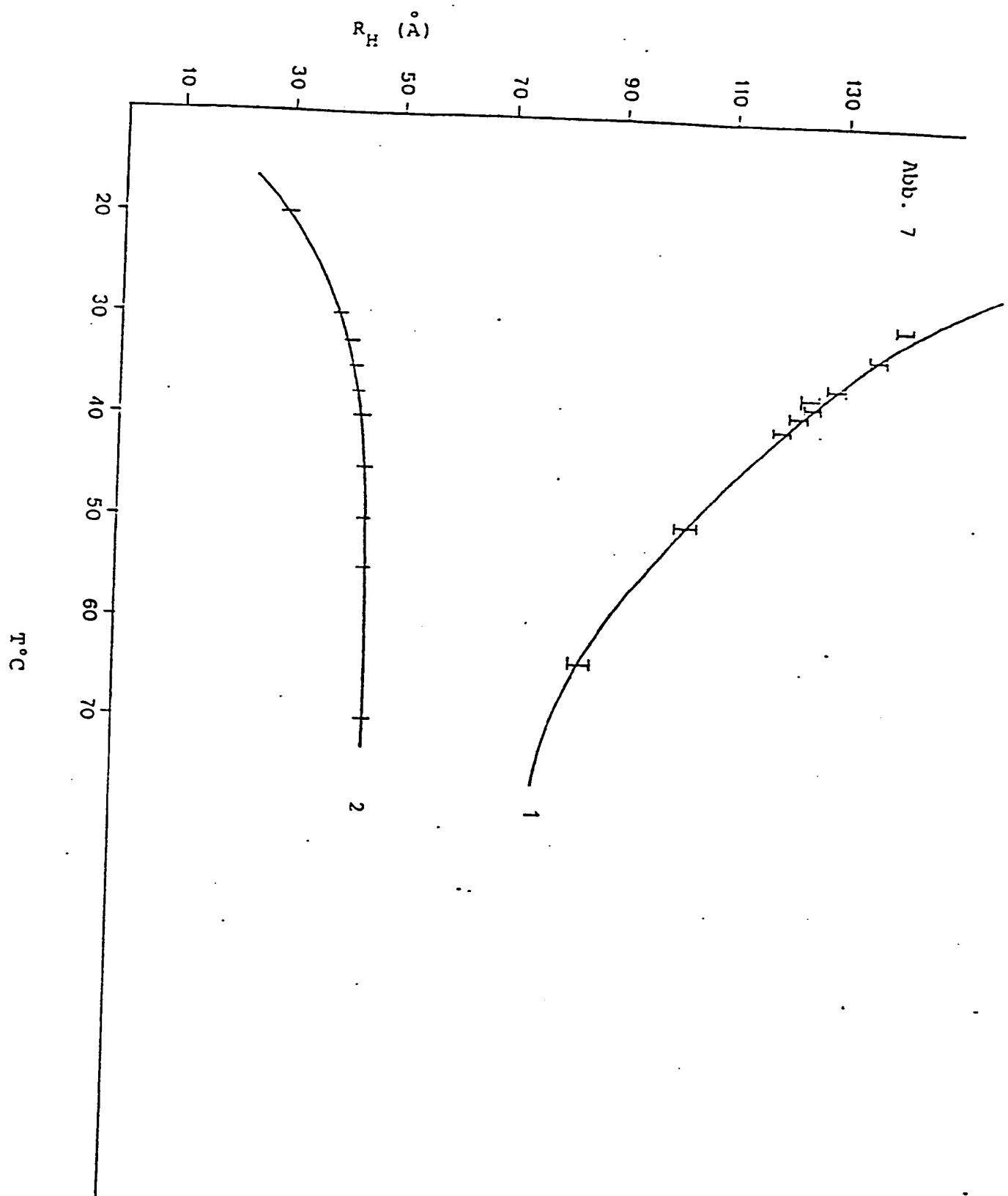


0 257 400

% V : Varianz der  $R_H$



0 257 400



0 257 400

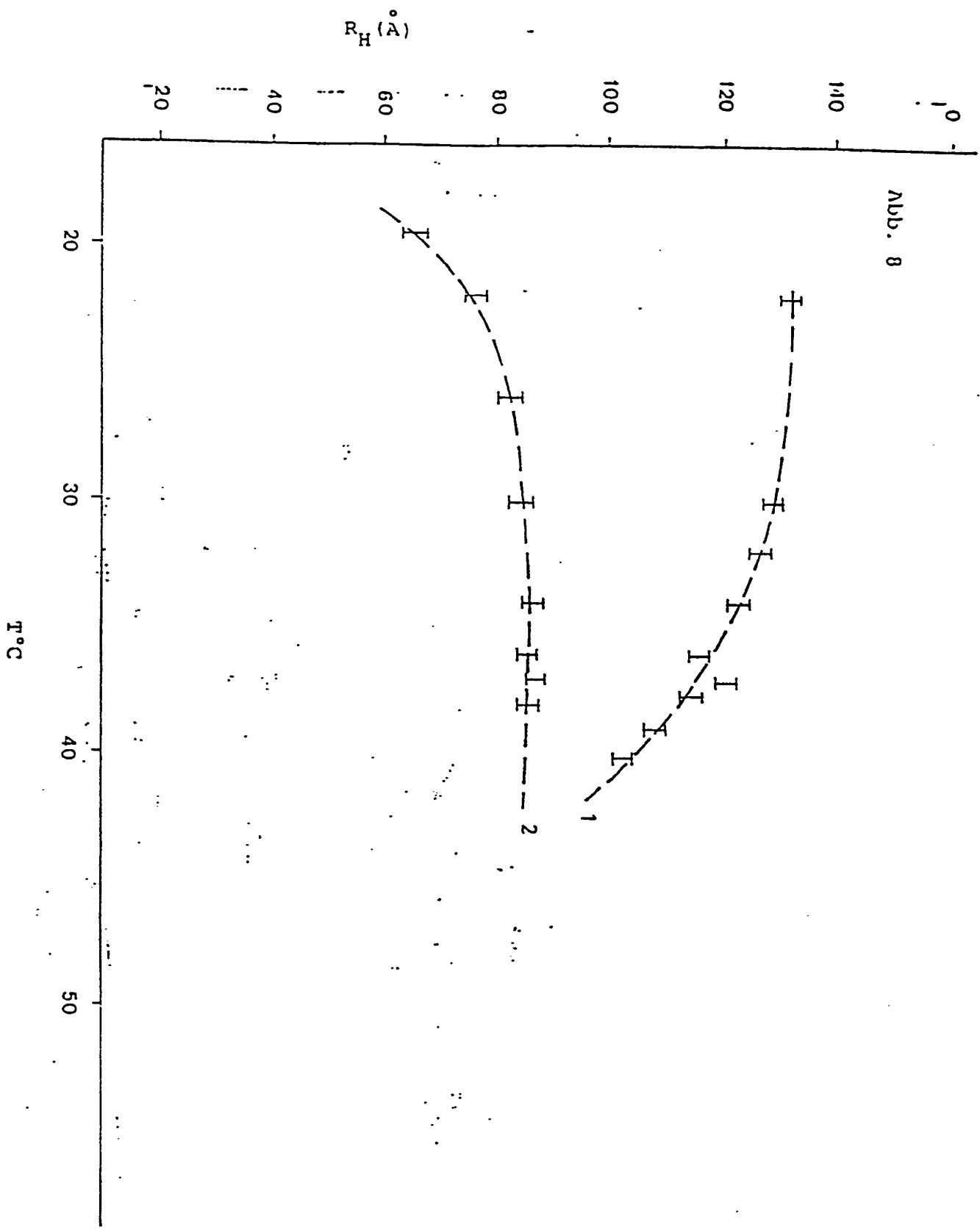
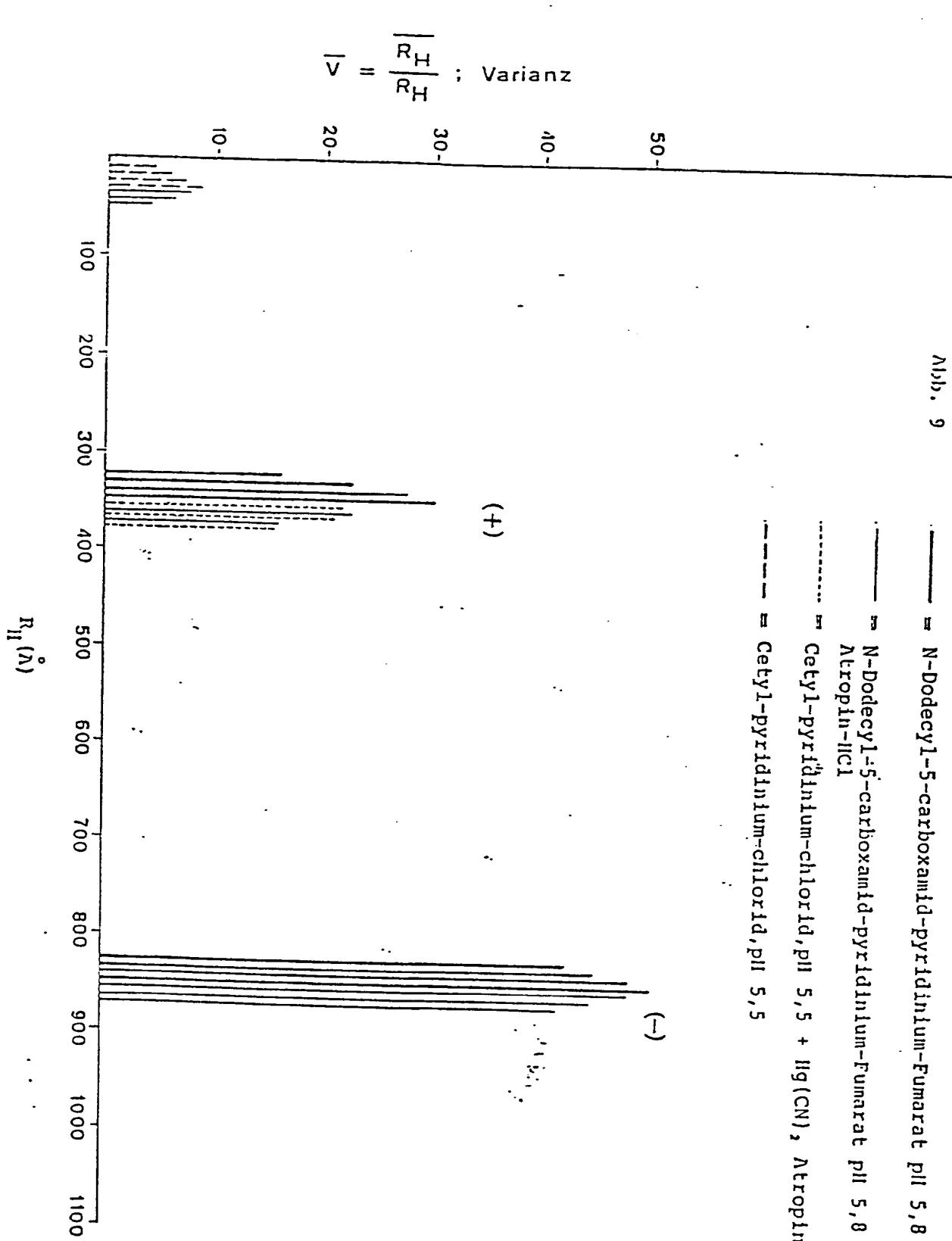


Abb. 9

- = N-Dodecyl-5-carboxamid-pyridinium-Fumarat pH 5,8
- = N-Dodecyl-5-carboxamid-pyridinium-Fumarat pH 5,8 + Atropin-HCl
- .... = Cetyl-pyridinium-chlorid, pH 5,5 + 11g(CN), Atropin-HCl
- - - = Cetyl-pyridinium-chlorid, pH 5,5



0 257 400

$$\sigma^2 = \frac{\sum (R_{II} - \bar{R}_{II})^2}{n_{II}} ; \text{ Variance}$$

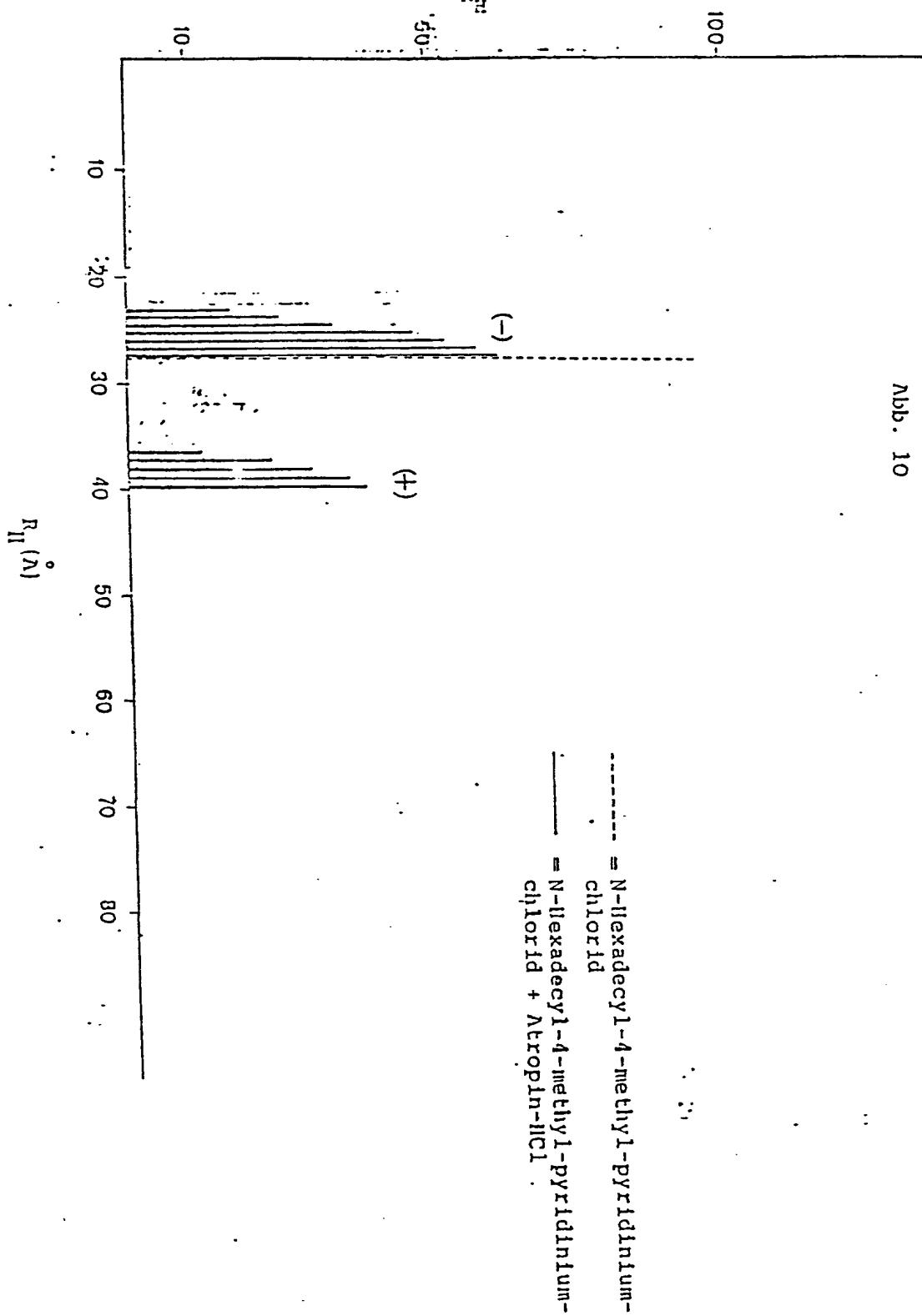
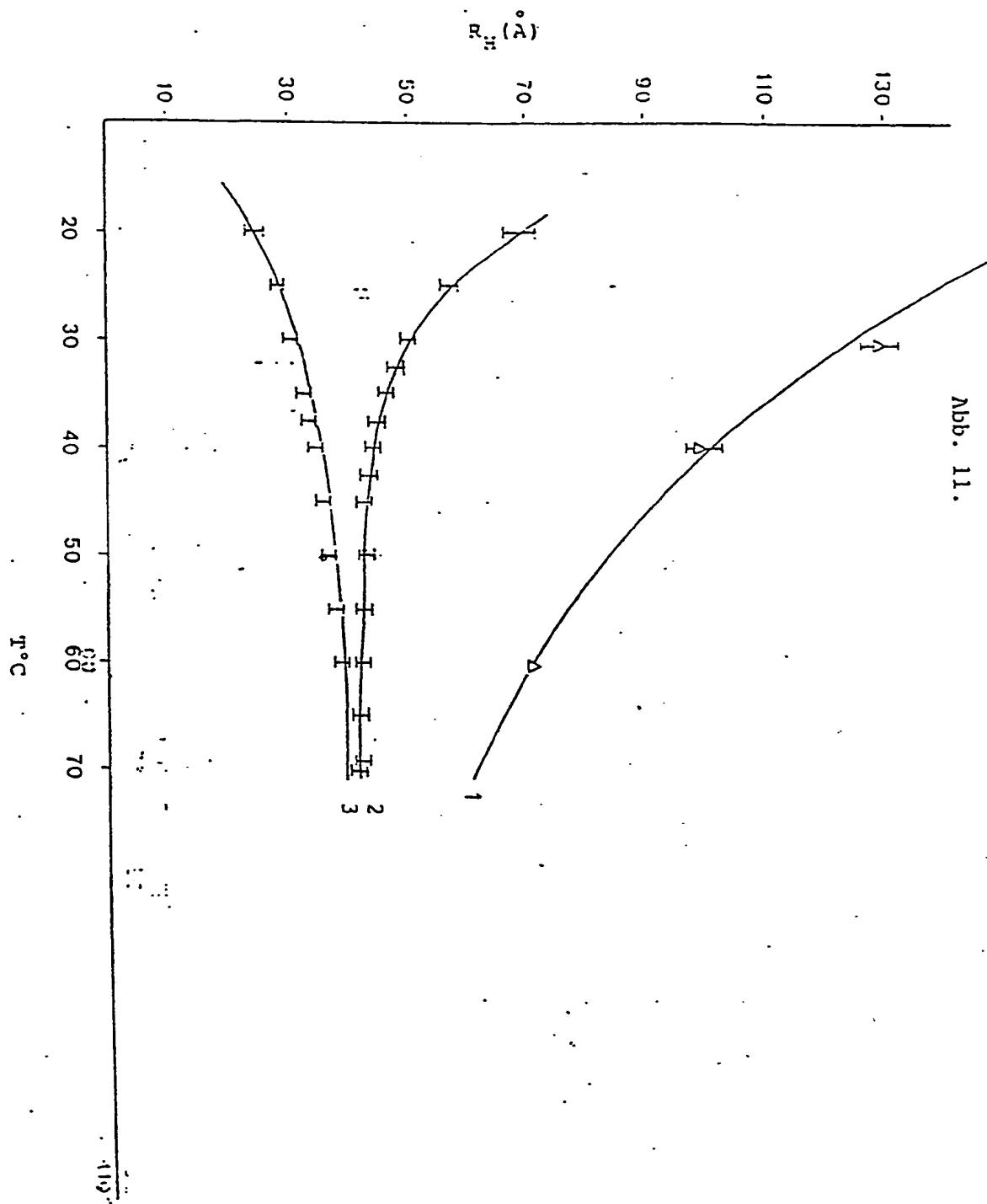


Abb. 10

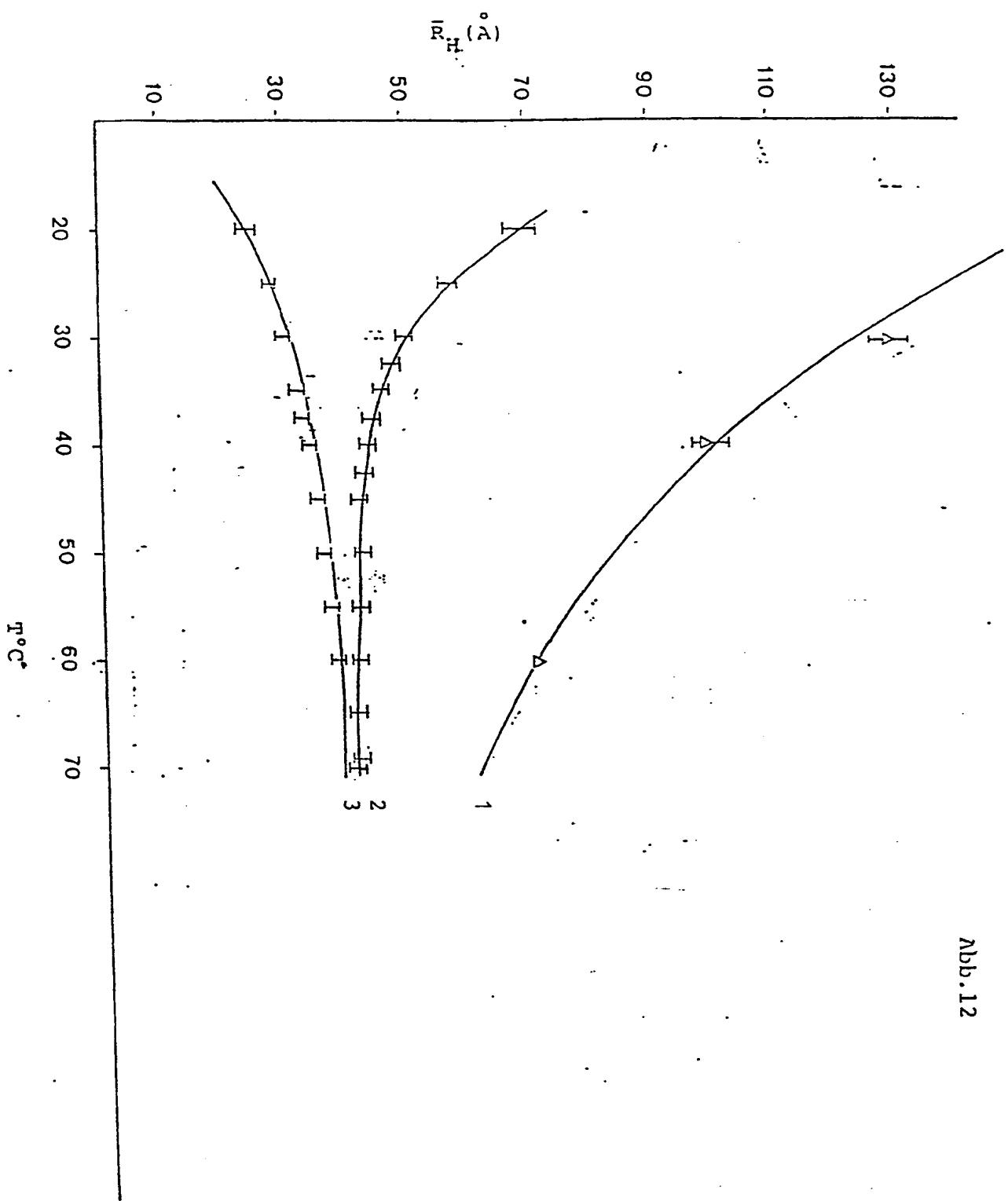
BAD ORIGINAL

0 257 400



0 257 400

Abb. 12



0 257 400

160

140

120

100

80

60

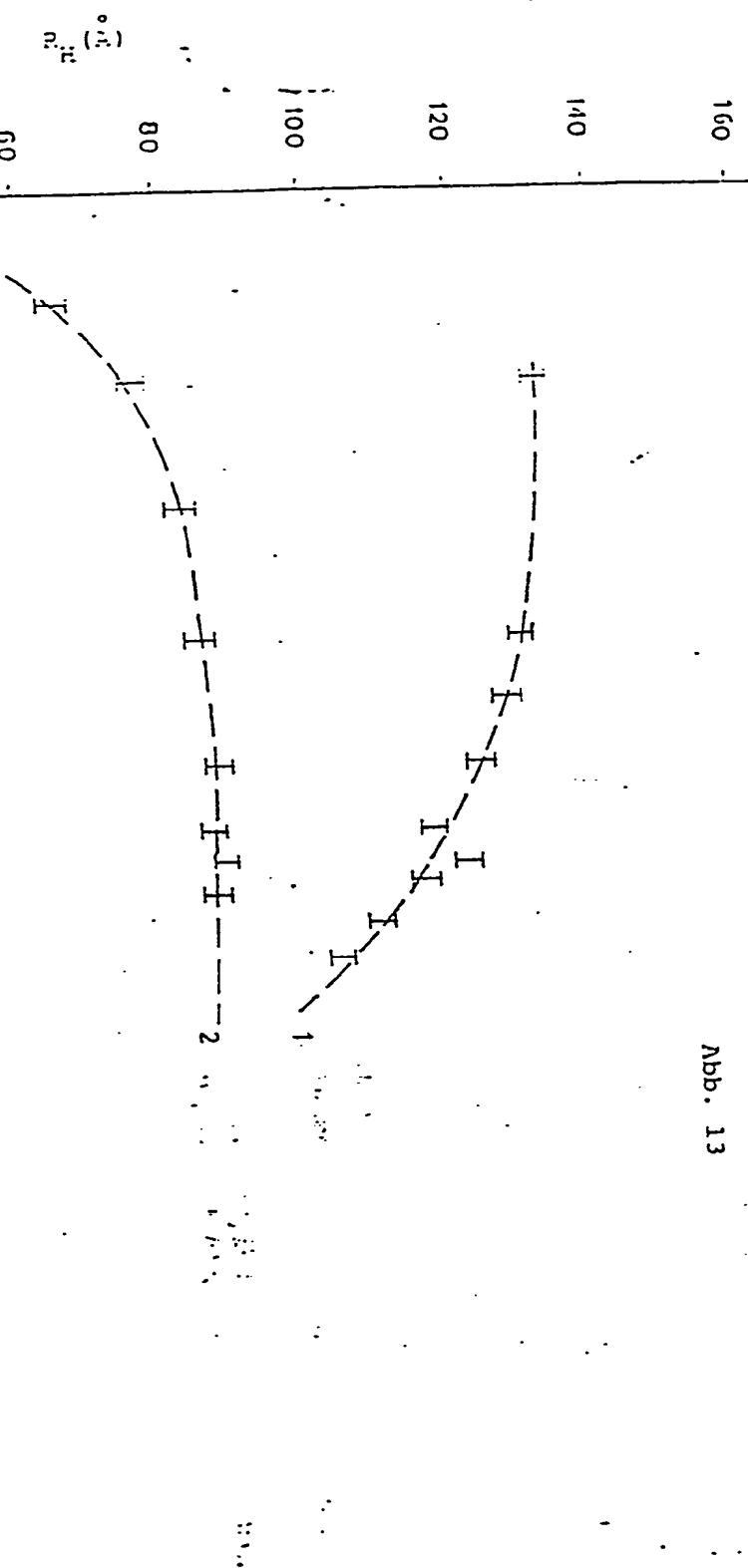
40

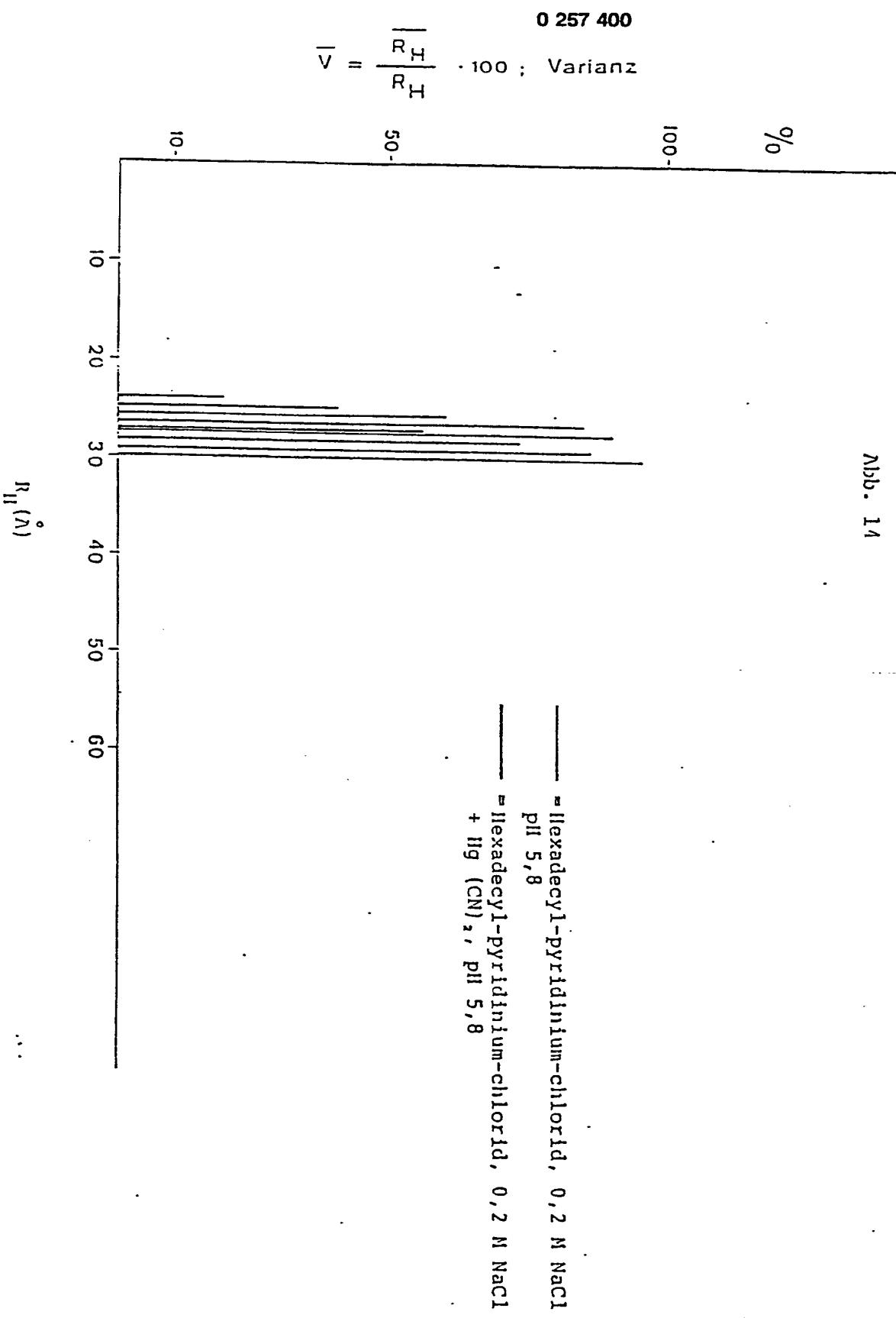
20

T°C

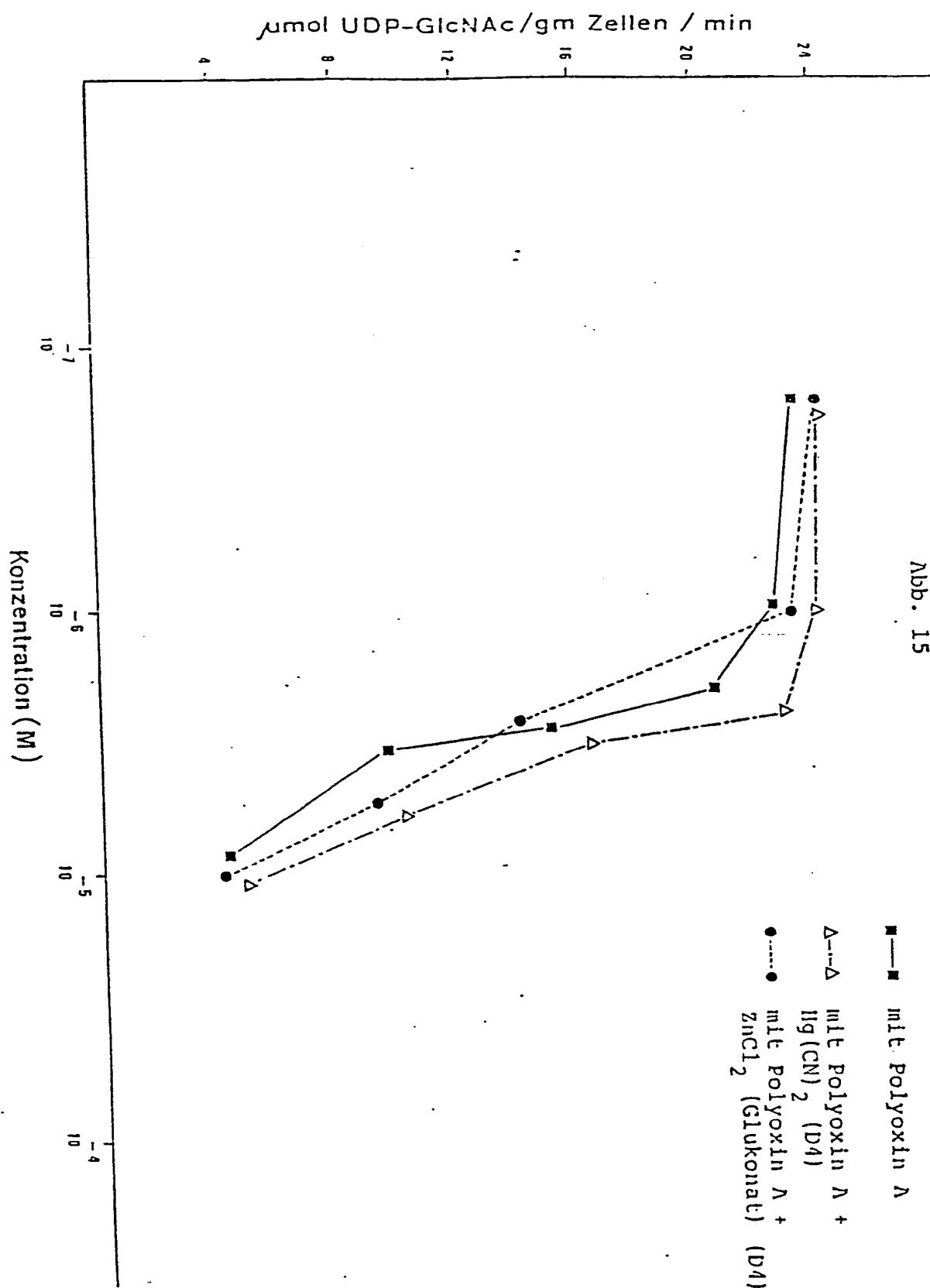
Abb. 13

$\sigma_{H_2}$  (%)





O 257 400



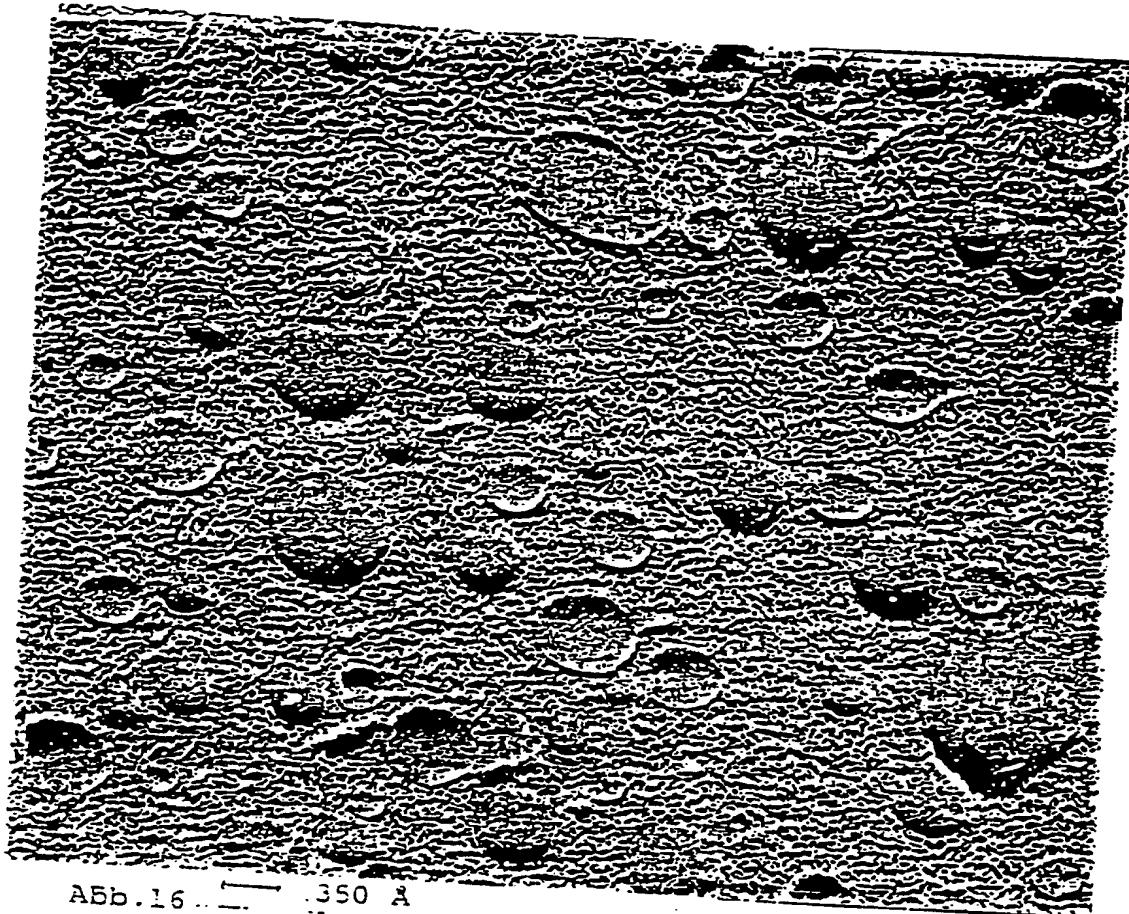


Abb. 16. — 350 Å

"Freeze fracture" elektronenmikroskopische Aufnahme von Vesikeln des  $N^+$ -Tensides 3,5-bis (n-hexadecyloxy)carbonyl - N-methyl-pyridiniumchlorid einschließlich der eingeschlossenen Polyoxin A gemäß Arbeitsvorschrift.

Es zeigt die verschiedenen Größenordnungen der Vesikel, wenn nicht nach Größenordnung getrennt wird.





Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets

(11) Veröffentlichungsnummer: 0 257 400  
A3

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(21) Anmeldenummer: 87111382.5

(51) Int. Cl.<sup>4</sup>: A61K 47/00 , A61K 9/10

(22) Anmeldetag: 06.08.87

(30) Priorität: 07.08.86 DE 3626700

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
02.03.88 Patentblatt 88/09

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

(88) Veröffentlichungstag des später ver öffentlichten  
Recherchenberichts: 26.07.89 Patentblatt 89/30

(71) Anmelder: MEDICE Chem.-Pharm. Fabrik  
Pütter GmbH & Co. KG  
Kuhloweg 37-39  
D-5860 Iserlohn/Westfalen(DE)

(72) Erfinder: Paradies, Henrich,  
Prof.Dr.med.Dr.rer.nat.  
Kuhloweg 38  
D-5860 Iserlohn(DE)

(74) Vertreter: Reinhard, Skuhra, Weise  
Leopoldstrasse 51  
D-8000 München 40(DE)

(54) **Kationische Tenside enthaltende Arzneimittel.**

(57) Es wird eine pharmazeutische Zubereitung offenbart, die aufgebaut ist aus einer Micelle, bestehend aus einem kationischen Tensid mit einem einwertigen Anion und einem hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoff, dispergiert in einem Lösungsmittel, dessen pH-Wert kleiner  $\leq$  7 ist, wobei die kritische Micellbildungskonzentration (KMK) im Bereich von  $1,0 \cdot 10^{-7}$  bis  $1,5 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter liegt. Außerdem wird eine Anzahl neuer kationischer Tenside (Heterozyklen) offenbart. Die offebarten Zubereitungen haben insbesondere den Vorteil, daß durch die Erhöhung der Hydrophobizität der Alkyl- bzw. Aryl-Kette bzw. Restes am N<sup>+</sup>-Tensid die Membran-Permeabilität erhöht wird, so daß die pharmazeutischen Wirkstoffe quantitativ passiv in das Zytosol übertragen können.

EP 0 257 400 A3



EP 87 11 1382

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl 4)
X	US-A-2 643 967 (J. PFANNMULLER) * Insgesamt *	1-13,20, 45-53, 58,59, 70,71, 78,79, 83 56,57	A 61 K 47/00 A 61 K 9/10
Y	--		
Y	FR-M- 7 202 (R. SOUMIREU-MOURAT) * Seite 1, linke Spalte, Zeilen 1-41, rechte Spalte, Formeln 2,3; Ansprüche *	56,57	
	--		
X,D	GB-A- 633 175 (PARKE, DAVIS & CO.) * Insgesamt *	1-13,20, 46-50, 54,55, 58,59, 70,71, 78,79	
	--		
X	FR-A-1 017 473 (P.W. WILCOX) * Insgesamt *	1-13,20, 46-55, 58,59, 70,71, 78,79	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.4)  A 61 K
	--		
X	JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, Band 71, Nr. 12, Dezember 1982, Seiten 1313-1318; Am. Pharm. Ass., Washington, US A. TSUJI et al.: "Effects of ./"		
	--		
ZUSÄNDIGE RECHERCHEN UND VERWALTUNGSKOMMUNIKATION			
Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	
DEN HAAG	05-12-1988	MUELLNERS	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet	E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmelde datum veröffentlicht worden ist		
Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie	D : in der Anmeldung angeführtes Dokument		
A : technologischer Hintergrund	L : aus andern Gründen angeführtes Dokument		
O : nichtschriftliche Offenbarung			
P : Zwischenliteratur			
T : der Erfüllung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze	& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument		



## GEBÜHRENPFLICHTIGE PATENTANSPRÜCHE

Die vorliegende europäische Patentanmeldung enthält bei ihrer Einreichung mehr als zehn Patentansprüche.

- Alle Anspruchsgebühren wurden innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.
- Nur ein Teil der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die ersten zehn sowie für jene Patentansprüche erstellt für die Anspruchsgebühren entrichtet wurden,  
nämlich Patentansprüche:
- Keine der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die ersten zehn Patentansprüche erstellt.

## X MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung; sie enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen,  
nämlich:

Siehe Blatt - B -

- Alle weiteren Recherchengebühren wurden innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.
- Nur ein Teil der weiteren Recherchengebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf Erfindungen beziehen,  
für die Recherchengebühren entrichtet worden sind,  
nämlich Patentansprüche:
- Keine der weiteren Recherchengebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf die zuerst in den Patentansprüchen erwähnte Erfindung beziehen.

nämlich Patentansprüche: 1-13, 20, 45-59, 70, 71, 78, 79, 82, 83 teilweise



EP 87 11 1382

- 2 -

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE

Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrieft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 4)
	surfactants on the aqueous stability and solubility of beta-lactam antibiotics"  * Seite 1313, linke Spalte, Zeile 1 - rechte Spalte, Zeile 7; Seite 1315, Tabelle 1; Seiten 1316-1318, Kapitel: "Discussion" *	1-13, 20, 46, 51, 58, 59, 78, 79, 82  --	
A	CHEMICAL ABSTRACTS, Band 102, Nr. 13, 1. April 1985, Seite 385, Ref. Nr. 109650n; Columbus, Ohio, US; E.I. EL-NIMA et al.: "The synergism between cetrimide and antibiotics against Pseudomonas aeruginosa" & ZENTRALBL. BAKTERIOL., MIKROBIOL. HYG., Ser. A 1984, 258(1), 120-7  * Zusammenfassung *	1-13, 59, 70, 71  --	RECHERCHIERTE SACHGEBiete (Int. Cl. 4)
A	CHEMICAL ABSTRACTS, Band 97, Nr. 26, 26. Dezember 1982, Seite 490, Ref. Nr. 223528g; Columbus, Ohio, US; L.G. IONESCU et al.: "Formation of micelles of cetyltrimethylammonium bromide in water-acetone solutions" & SOLUTION BEHAV. SURFACTANTS: THEOR. APPL. ASPECTS, (Proc. Int. Symp.) 1980 (Pub. 1982) 1, 407-16  * Zusammenfassung *	1-13, 52, 53, 78, 79  --	
A	JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY, Band 90, Nr. 9, 24. April 1986, Seiten 1853-1859; Am. Chem. Soc., Washington, US		
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX-..			
Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	
<p>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN</p> <p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet  Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie  A : technologischer Hintergrund  O : nichtschriftliche Offenbarung  P : Zwischenliteratur  T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze</p> <p>E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist  D : in der Anmeldung angeführtes Dokument  L : aus andern Gründen angeführtes Dokument</p> <p>&amp; : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p>			



# **EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT**

EP 87 11 1382

- 3 -

## **EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE**



## MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung; sie enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

Bei der Feststellung der mangelnden Einheitlichkeit und der Recherche wird von folgender Interpretation des Anspruchs 3 ausgegangen:

Bei den kationischen Tensiden handelt es sich

- a) um die nachher für Gegenstand 1 unter Punkt 1a) definierten nichtzyklischen Ammoniumsalze oder
- b) um die Salze der N-substituierten Heterozyklen selbst, die im Anspruch 3 als Reste Rm und Rn definiert sind. Es wird gestützt auf die Beschreibung angenommen, dass der Anmelder mit dieser Definition auf solche Verbindungen abzielt, und nicht nur, wie es dem tatsächlichen Wortlaut entspricht, auf Heterozyklen, die mit einer tertiären Aminogruppe substituiert sind.

Ferner werden auch die in Anspruch 21 angeführten bipyklischen Heterozyklen als im Umfang dieser Definition enthalten betrachtet.

Es wird darauf hingewiesen, dass die in den Ansprüchen 85, 86, 88 und 89 genannten Verfahren, Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung sind, bei denen Heterozyklen verwendet werden, die auf die in diesen Ansprüchen genannten spezifischen Weisen hergestellt wurden.

Entsprechendes gilt für die Ansprüche 87 und 90 soweit sie in ihrer Beziehung zu diesen Ansprüchen betrachtet werden. Die Verfahren selbst zur Herstellung der Heterozyklen als solche gehören nicht zum Umfang dieser Ansprüche und werden dementsprechend bei der Feststellung des Mangels der Einheitlichkeit und bei der Recherche nicht erfasst.

Anspruch 84 wird ebenfalls so betrachtet und damit auch die Ansprüche 87 und 90 zur Gänze. Für diesen Anspruch ist eine andere Deutung möglich. Sollte deshalb der Anmelder mit der obigen Betrachtungsweise des Anspruchs 84 nicht einverstanden sein, sollte er dies bei einer Entrichtung zusätzlicher Recherchengebühren angeben. In diesem Falle müsste allerdings wiederum auf einen Mangel der Einheitlichkeit erkannt werden, da ein Verfahren zur Herstellung der Heterozyklen als solche einen eigenständigen Erfindungsgegenstand darstellt.

Es sei darauf hingewiesen, dass sich im Laufe einer Recherche der Gegenstände 7-18 diese ebenfalls als uneinheitlich zum Beispiel in Hinblick auf die pharmazeutischen Wirkstoffe erweisen könnten.

Entsprechendes gilt für die Gegenstände 19-22 zum Beispiel in Hinblick auf das kationische Tensid.

-.-.-.-.-.-.-.-.-

./.



X MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung; sie enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

Pharmazeutische Zubereitung die ein kationisches Tensid und einen hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoff enthält, soweit

1) das kationische Tensid

- a) eine Verbindung der in Anspruch 3 gegebenen Strukturformel ist, wobei Rm und Rn unabhängig voneinander geradkettige oder verzweigte, gegebenenfalls substituierte Alkylreste mit 1-22 C-Atomen oder Alkylenreste mit 8-20 C-Atomen sind,  
oder
- b) eine Verbindung entsprechend der in Anspruch 45 gegebenen Strukturformel ist,  
und

2) der hydrophobe pharmazeutische Wirkstoff:.....

Sowie Verfahren zur Herstellung einer solchen pharmazeutischen Zubereitung.

1. Patentansprüche 1-13, 20, 45-59, 70, 71, 78, 79, 82, 83  
teilweise:  
... ein Antibiotikum ist.
2. Patentansprüche 1-13, 20, 45-58, 60, 74, 75, 78, 79, 82, 83  
teilweise:  
... ein antifungaler Wirkstoff ist.
3. Patentansprüche 1-13, 20, 45-58, 61, 76-79, 82, 83  
teilweise:  
... ein antiproliferativer oder antineoplastischer Wirkstoff ist.
4. Patentansprüche 1-13, 20, 45-58, 62, 72, 73, 78, 79, 82, 83  
teilweise:  
... ein antiviraler Wirkstoff ist.
5. Patentansprüche 1-13, 20, 45-51, 63-67, 78, 79, 82, 83  
teilweise:  
... eine anorganische Verbindung der Elemente Zn, Hg, W und/oder Sb ist.
6. Patentansprüche 1-13, 20, 45-58, 68, 69, 78, 79, 82, 83  
teilweise:  
... ein Derivat der Phosphonsäure ist.

Pharmazeutische Zubereitung die ein kationisches Tensid und einen hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoff enthält, soweit das kationische Tensid:.....

Sowie Verfahren zur Herstellung einer solchen pharmazeutischen Zubereitung.

.//..

X **MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG**

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung; sie enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

7. Patentansprüche 14, 17, 22-25, 41, 42 und  
1-3, 20, 21, 46-85, 87, 90 teilweise:  
... ein N-substituiertes 2- oder 4-Methyl- oder  
4-Ethyl-pyridinium-Salz ist oder ein N-Alkyl-  
pyridinium-Salz entsprechend der in Anspruch  
21 gegebenen Formell ist.
8. Patentansprüche 15, 18 und  
1, 2, 20, 46-79, 82-85, 87, 90 teilweise:  
... ein N-substiuiertes 2-Methyl- oder 2-Ethyl-  
imidazolinium-Salz ist.
9. Patentansprüche 16, 19 und  
1-3, 20, 46-79, 82-85, 87, 90 teilweise:  
... ein N-substituiertes 2-Methyl-8-Chlor-chinolinium-  
Salz ist.
10. Patentansprüche 26, 27, 86 und  
1-3, 20, 21, 46-85, 87, 90 teilweise:  
... ein N-Alkyl-pyrimidinium-Salz entsprechend der  
in Anspruch 21 gegebenen Formel ist.
11. Patentansprüche 28, 29 und  
1-3, 20, 21, 46-85, 87, 90 teilweise  
... ein N-Alkyl-pyrazinium-Salz entsprechend der in  
Anspruch 21 gegebenen Formel ist.
12. Patentansprüche 30, 31, 88, 89 und  
1-3, 20, 21, 46-85, 87, 90 teilweise:  
... 7-Alkyl-purinium-Salz entsprechend der in  
Anspruch 21 gegebenen Formel ist.
13. Patentansprüche 36, 37 und  
1-3, 20, 21, 46-85, 87, 90 teilweise  
... ein N-Alkyl-imidazolium-Salz entsprechend der  
in Anspruch 21 gegebenen Formel ist.
14. Patentansprüche 34, 35 und  
1-3, 20, 21, 46-85, 87, 90 teilweise:  
... ein N-Alkyl-pyrazolium-Salz entsprechend der  
in Anspruch 21 gegebenen Formel ist.
15. Patentansprüche 38, 39 und  
1-3, 20, 21, 46-85, 87, 90 teilweise:  
... ein N-Alkyl-thiazolium-Salz entsprechend der  
in Anspruch 21 gegebenen Formel ist.
16. Patentansprüche 40 und  
1-3, 20, 21, 46-85, 87, 90 teilweise:  
... ein N-Alkyl-benzthiazolium-Salz entsprechend

./...

X | **MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG**

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung; sie enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

der in Anspruch 21 gegebenen Formel ist.

17. Patentansprüche 32, 33 und  
1-3, 20, 21, 46-85, 87, 90 teilweise:  
... ein N-Alkyl-benzimidazolium-Salz entsprechend  
der in Anspruch 21 gegebenen Formel ist.
18. Patentansprüche 43, 44 und  
1-3, 20, 46-85, 87, 90 teilweise:  
... ein 4-(17-Tritriacontyl)-N-Methyl-pyridinium-  
Salz oder ein 3,5-Bis-(Hexadecyloxycarbonyl)-N-  
Methyl-pyridinium-Salz ist.
19. Patentanspruch 91: Verwendung der Heterozyklen zur  
Herstellung von mizellaren oder  
vesikulären Strukturen in Lösungs-  
mitteln.
20. Patentanspruch 92: Verwendung der Heterozyklen zur  
Aufnahme hydrophober pharmazeuti-  
scher Wirkstoffe in Lösungsmitteln.
21. Patentanspruch 93: Verwendung der Heterozyklen als  
eigenständige pharmazeutische Wirk-  
stoffe.
22. Patentanspruch 94: Verwendung der Heterozyklen als  
spektroskopische Marker sowie zu  
kolloid-chemischen Messverfahren.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**